

UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS

FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUIMICA

E.A.P DE FARMACIA Y BIOQUIMICA

**Incidencia de *Campylobacter* sp. en pacientes
ambulatorios menores de cinco años con diarrea aguda
en dos hospitales de Lima:**

octubre 2005-enero 2006

TESIS

para optar el título profesional de Químico Farmacéutico

AUTOR

Lilia Janet Hurtado Díaz

Rosalyn Susmira Rojas Mendoza

ASESOR

Mirtha Roque Alcarraz

Lima – Perú

2008

A DIOS por guiarnos en el
transcurso de nuestras vidas

A nuestros padres por su paciencia e incesante apoyo
en el transcurso de la formación profesional.

A nuestra ASESORA por su orientación,
consejo y apoyo en la ejecución del
presente trabajo
Mg. Mirtha Roque Alcarraz

Por su apoyo en el desarrollo del
presente trabajo y por su gran amistad.
Biologa Rosa Liliana Pineda

INDICE

RESUMEN	
SUMMARY	
INTRODUCCIÓN	1
OBJETIVOS	3
 I. GENERALIDADES	 4
1. CARACTERÍSTICAS DEL GENERO <i>Campylobacter</i>	4
1.1. MORFOLOGÍA	5
1.2. DIVERSIDAD	6
1.3. TEMPERATURA DE CRECIMIENTO	7
1.4. ATMÓSFERA	
1.5. METABOLISMO	7
1.6. RESERVORIOS	7
1.7. PROCESOS CLÍNICOS ASOCIADOS A <i>Campylobacter</i>	10
1.7.1. FISIOPATOLOGÍA DE LA INFECCIÓN POR <i>Campylobacter</i> EN HUMANOS	10
1.7.2. INFECCIONES EXTRAINTESTINALES	13
1.8. ANTECEDENTES DE LA PRESENCIA DE <i>Campylobacter</i>	14
1.8.1. INTERNACIONALES	14
1.8.2. NACIONALES	18
 II. PARTE EXPERIMENTAL	 21
1. EQUIPOS, MATERIALES, MEDIOS DE CULTIVO Y REACTIVOS.	21
1.1. EQUIPOS	21
1.2. MATERIALES	21
1.3. MEDIOS DE CULTIVO	21
1.4. REACTIVOS	21

2. METODOLOGÍA DE TRABAJO	22
2.1. RECOLECCIÓN DE MUESTRAS	22
2.2. PROCESAMIENTO DE LAS MUESTRAS	22
2.3. PRUEBAS BIOQUÍMICAS	23
III. RESULTADOS	28
IV. DISCUSIONES	41
V. CONCLUSIONES	43
VI. RECOMENDACIONES	44
VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	45
VIII. ANEXOS	49
Anexo 1 - Suplemento de aerotolerancia	49
Anexo 2 - Coloración Gram Interrumpido	49
Anexo 3 - Hidrólisis del Hipurato	49
Anexo 4 -	50
Anexo 5 - Ficha Epidemiológica	57
Anexo 6 - Tipificación de <i>Campylobacter</i>	58
INDICE DE FIGURAS	
Figura 1 - Medio selectivo para <i>Campylobacter sp.</i>	60
Figura 2 – Crecimiento de <i>Campylobacter sp.</i>	61
Figura 3 – Crecimiento de <i>Echerichia coli sp.</i>	62
Figura 4 – Crecimiento de <i>Salmonella sp.</i>	63
Figura 5 – Crecimiento de <i>Shigella sp.</i>	64
Figura 6 – Bioquímica de <i>Echerichia coli sp.</i>	65
Figura 7 – Bioquímica de <i>Salmonella sp.</i>	66
Figura 8 – Bioquímica de <i>Shigella sp.</i>	67

RESUMEN

Las bacterias del género *Campylobacter* han cobrado importancia como patógenas para el hombre, debido principalmente a su asociación con procesos gastroentéricos, a través del contacto con animales infectados y/o alimentos contaminados como fuente principal de contaminación para el hombre que provoca cuadros gastrointestinales ocasionados por este tipo de bacterias, las personas mas susceptibles son los niños menores de cinco años, las personas de edad avanzada y los inmunocomprometidos.

Los objetivos del presente trabajo fueron determinar la presencia e incidencia de *Campylobacter* (*Campylobacter jejuni*, *C. coli*, *C. lari*) como agente etiológico de diarrea aguda, en niños menores de cinco años atendidos en hospitales de Lima (Perú).

La metodología de trabajo fue la recomendada por la OMS, se evaluaron 405 muestras, procedentes de dos hospitales; Hospital de Emergencias Pediátricas y Hospital Materno-Infantil San Bartolomé; ubicados en el Distrito Cercado de Lima en el período correspondiente a Octubre del 2005 hasta Enero del 2006, obteniéndose una incidencia de 0.091 (37 casos positivos) para *Campylobacter sp.*, siendo el grupo etáreo mas vulnerable los niños menores de un año con 20 casos positivos, encontrándose mayor numero de casos positivos en los meses de octubre para el hospital de Emergencias Pediátricas y diciembre para el Hospital Materno –Infantil San Bartolomé.

PALABRAS CLAVES:

Campylobacter jejuni, *Campylobacter coli*, *Campylobacter lari*, diarrea aguda.

SUMMARY

The bacteria of the *Campylobacter* genus have become important as pathogens for humans mainly because of their association to gastroenteric processes. These are caused through contact with infected animals and/or contaminated food as the main source of contamination for humans, which cause gastrointestinal manifestations resulting from this type of bacteria. The most sensitive are children under five, the elderly and the immune deficient people.

The objectives of the present work were to determine the presence and incidence of *Campylobacter* (*Campylobacter jejuni*, *C. coli*, *C. lari*) as etiological agent of acute diarrhea in children under five treated in hospitals in Lima (Perú).

The work methodology was that recommended by the WHO. There were 405 samples evaluated coming from two hospitals; the Pediatric Emergency Hospital and the Mother-Child Hospital San Bartolomé; located in the district of Cercado de Lima in the period October 2005 to January 2006, there was an incidence of 0.091 (37 positive cases) for *Campylobacter sp.*, the most vulnerable age group was that of children under one year old with 20 positive cases, the highest number of positive cases were registered in October in the Hospital of Pediatric Emergency and in December in the Mother–Chile Hospital San Bartolomé.

KEY WORDS:

Campylobacter jejuni, *Campylobacter coli*, *Campylobacter lari*, acute diarrhea.

INTRODUCCIÓN

La enfermedad diarreica aguda (EDA), constituye un problema de salud pública en el Perú debido a su alto costo económico, social y familiar; siendo una de las principales causas de morbilidad y mortalidad en la niñez, especialmente en niños menores de cinco años, habiéndose presentado 381,891 casos de enfermedades infecciosas intestinales que representan el 6.5% de consultas externas en el año 2002, se tiene como octava causa de muerte infantil en el año 2000 (menores de 1 año), estas pueden ser de origen viral principalmente, parasitarias y bacterianas (1). Considerando muchas veces a *Campylobacter sp.* como principal causa de enfermedad entérica en pacientes pediátricos (2).

La incidencia de diarrea es mayor en niños menores de cinco años y esta decrece al aumentar la edad, esta variación con la edad debe ser tomada en cuenta, ya que episodios de diarrea a repetición en el primer año de vida pueden deteriorar el estado nutricional y causar graves secuelas como el síndrome de Guillain Barré (3).

La Organización Mundial de la Salud estima que, cada año, en los países en vías de desarrollo (África y América Latina), se presentan 1 300 millones de episodios de diarrea en niños menores de cinco años, los cuales ocasionan cuatro millones de decesos, lo que ubica a la diarrea entre las principales causas de muerte en estos países (4).

Las especies de *Campylobacter* son las causantes más frecuentes de diarrea bacteriana aguda en todos los grupos de edad, con una mayor incidencia en niños menores de 5 años. Este enteropatógeno está asociado frecuentemente a cuadros clínicos de diarrea complicada o diarrea persistente en menores de un año que requieren hospitalización. En su transmisión está involucrado el contacto con animales domésticos y de granja, siendo encontrada la bacteria en heces de aves de corral, perros, gatos, vacas y ovejas. La presentación clínica es variable, desde diarrea acuosa hasta disentería, siendo muchas veces excretada sin producir síntomas.

Se considera que la infección por *Campylobacter* es una zoonosis, cuyo reservorio son los animales en los países industrializados, pero en los países en desarrollo el hombre también desempeña un papel importante. Además se han reconocido 36 serotipos de *Campylobacter jejuni* con antígenos flagelares de tipo termolábil (5) y más de 50 serotipos con antígenos de superficie de tipo termoestable (6); todos ellos pueden colonizar el intestino.

Debemos considerar las limitaciones en la obtención de datos de los pacientes para la interpretación completa de los resultados porque se tuvo acceso restringido a las historias clínicas.

OBJETIVOS

GENERAL:

- Determinar la incidencia de *Campylobacter sp.* como causa de diarrea aguda en niños menores de 5 años.

ESPECIFICO:

- Aislar e identificar las especies de *Campylobacter* a partir de heces diarreicas de niños menores de 5 años.
- Comparar las incidencias de diarreas producidas por *Campylobacter sp.* con otros enteropatógenos.

I. GENERALIDADES

1. CARACTERÍSTICAS DEL GENERO *Campylobacter*

Las primeras especies de este género fueron identificadas hace más de 90 años en animales, pero no fue sino hasta 1970 cuando se reconoció como patógeno humano. Inicialmente incluidos dentro del género *Vibrio*, en 1963 se encontró que presentaban notorias diferencias bioquímicas y serológicas con el agente del cólera y otros vibrios halofílicos, constituyéndose entonces el género *Campylobacter*. Aunque la clasificación de estas bacterias está en continua revisión y modificación, actualmente se consideran dos géneros dentro del Grupo *Campylobacter*: *Campylobacter*, con más de 20 especies y subespecies, y *Arcobacter*. De acuerdo a criterios taxonómicos más actuales, pertenece a la familia *Campylobacteraceae*, propuesta por Vandamme desde el año 1991 integra el Grupo I de la Superfamilia VI de rARN. Esta comprende tres géneros: *Campylobacter*, *Arcobacter* y *Sulfurospirillum* (7).

Los primeros aislamientos correspondieron a hemocultivos, por lo tanto, la muestra inoculada era sangre y posiblemente era el único agente infeccioso presente; por lo tanto no enfrentaba a otras bacterias que compitieran y se podía poner de manifiesto fácilmente. Una situación totalmente opuesta a la que se enfrenta cuando se pretende hacer el aislamiento a partir de una muestra de heces. Sin embargo, dos de los investigadores que más colaboraron con el reconocimiento de este agente como causa de diarrea hicieron dos aportes metodológicos que propiciaron su aislamiento. Primero, el Dr. Skirrow ideó filtrar las muestras de heces diarreicas a través de membranas de filtros con porosidad de 0.5 μm , lo cual permitía retener a la mayoría de las bacterias presentes en las muestras y solo pasarían las bacterias mas delgadas. Posteriormente, el Dr. Bützler formuló medios selectivos a base de antibióticos que inhibían el crecimiento de otros agentes (8).

Pronto se formuló el uso de cinco antibióticos en un agar sangre cuya base era el medio para Brucella, que fue conocido como Agar de Bützler y posteriormente también Skirrow ideó otra formula más simple con solo tres antibióticos, que se conocen como suplementos B y S respectivamente. (Cuadro N° 1) (8).

Cuadro N° 1
Antibióticos* de los medios para *Campylobacter*

Antibióticos	Bützler	Skirrow
Vancomicina	10 mg	10 mg
Polimixina	2500U	2500 U
Trimetoprima	5 mg	5 mg
Cefalotina	12 mg	No
Anfotericina B	2 mg	No

*proporción por medio litro de medio base, el medio base es el agar Brucella o agar *Campylobacter* conteniendo sangre de un 7 a 10% (carnero o caballo).

Estos medios actualmente han sufrido algunas modificaciones en sus presentaciones comerciales, el suplemento usado para el presente trabajo fue el de la casa comercial OXOID.

Cuadro N° 2
Campylobacter Selective Supplement (Butzler) SR0085E

Antibióticos	Butzler
Bacitracina	12,500 IU
Cicloheximida	25.00 mg
Colistina sulfato	5,000 IU
Cefazolina sodica	7.5 mg
Novobiocina	2.5 mg

1.1. MORFOLOGÍA

Se trata de bacterias gramnegativas, pequeñas (0.3-0.6 μm de diámetro, 0.5-5 μm de ancho), no esporuladas, con una forma distintiva curva o en espiral, con aspecto de vibrio, cuando se observan a partir de cultivos jóvenes; con más de 48 horas de incubación "colonias viejas" o tras prolongada exposición al aire adoptan una forma cocoide difíciles de cultivar. Presentan un flagelo no envainado único en uno o dos de sus extremos y se mueven característicamente en forma rápida y a modo de sacacorchos.

1.2. DIVERSIDAD DE *Campylobacter*

Los *Campylobacter* aislados son sorprendentemente diversos en comparación con otros enteropatógenos. Ambas diversidades genotípica y fenotípica han sido descritas, siendo *C. jejuni*, *C. coli* y *C. lari* los que representan más del 99% de *Campylobacter* aislados de humanos (*C. jejuni* 90%). Otras especies se han asociado con enfermedades humanas en los últimos años (9).

Cuadro N° 3

Diversidad de *Campylobacter*

Características	Diversidad descrita
Serotipo termo-estable	>60 serotipos diferentes
Serotipo termolábil	>100 serotipos diferentes
Otras características fenotípicas	Diferencias en las propiedades adherentes, Propiedades invasivas, de producción de toxina, resistencia al suero, potencial de colonización a pollos, aerotolerancia, tolerancia a la temperatura.
Genotipos	Diversidad genotípica ha sido detectada por PFGE, RAPD, ribotipificación, PCR-RFLPAFLP.

Generalmente los dos esquemas serotípicos son aplicados para tipificar, el esquema extendido para tipos termolábil o de Lior que ahora reconoce alrededor de 100 serotipos de *C. jejuni*, *C. coli*, y *C. lari* (10). El esquema de tipificación para termoestables de Pender y Hennesy, basado en el lipopolisacárido antígeno-O, detectado en más de 60 serotipos (11). La diversidad genotípica ha sido demostrada por métodos genéticos severos por ejemplo en gel electroforesis de campo pulsátil. La diversidad entre las cepas ha sido también observada a nivel fenotípico y casi todas las características han sido implicadas en la patogenicidad.

Sin embargo comparando aislamientos clínicos y no clínicos la variación fenotípica no siempre coincide con las diferencias observadas o predichas respecto a la virulencia. Ejemplos de diversidad fenotípica son: Adherencia a células intestinales, producción de toxina, sensibilidad al suero, potencial de colonización en pollos.

La ocurrencia de esta diversidad puede estar explicada como consecuencia de la habilidad de estas células de *Campylobacter* para intercambiar información genética, lo que resulta en la plasticidad genómica. De esto queda claro que *Campylobacter* no está representado por un número limitado de clones.

1.3. TEMPERATURA DE CRECIMIENTO

Casi todas las especies son capaces de desarrollarse a 37° C, pero *Campylobacter jejuni* tiene una temperatura óptima de crecimiento de 42° C, su velocidad de desarrollo es mas lenta que la de las bacterias de la flora normal entérica, por lo cual, para su aislamiento a partir de materias fecales se requieren medios de cultivos selectivos que inhiban esta flora (12).

Campylobacter jejuni puede sobrevivir 2-4 semanas bajo humedad, sumado a la reducción de oxígeno y condiciones a 4° C, en la que se conservan algunos alimentos (excepto en la leche cruda). También pueden sobrevivir 2-5 meses, a -20° C, pero sólo unos pocos días a temperatura ambiente (13).

1.4. ATMÓSFERA

Casi todas las especies sólo pueden desarrollar en condiciones de reducción de oxígeno, habitualmente en atmósfera microaerófila (5-10% de oxígeno). Las tensiones ambientales, como la exposición al aire, el secado, el pH bajo, la calefacción, la congelación y almacenamiento prolongado, provocan daños y obstaculizan la recuperación de las células en un mayor grado que en la mayoría de las bacterias.

1.5. METABOLISMO

Tienen un metabolismo no fermentativo ni oxidativo, su obtención de energía proviene de moléculas de aminoácidos o de intermediarios de 4 ó 6 carbonos del ciclo de Krebs (14).

1.6. RESERVORIOS

La infección por *Campylobacter sp* constituye una zoonosis de distribución mundial e induce un cuadro de diarrea, que puede caracterizarse por heces líquidas tipo agua de arroz o bien con presencia de sangre y moco como en una disentería.

A pesar de que algunos aspectos de la transmisión del microorganismo aún se desconocen se ha logrado progresar considerablemente en la comprensión de sus reservorios. Aparentemente los modos de transmisión predominante son diferentes en países industrializados y en países en vías de desarrollo.

En los países desarrollados se asocia a brotes epidémicos relacionado con consumo de alimentos contaminados especialmente pollo. En países en desarrollo su epidemiología se asocia más con contaminación fecal del ambiente al igual que ocurre con el resto de los agentes productores de diarrea.

Reservorios animales:

Varias especies de *Campylobacter* se encuentran como comensales en el tracto gastrointestinal de animales salvajes y domésticos aunque puede causar una diarrea ocasional observada en animales jóvenes. Los principales reservorios lo constituyen el ganado bovino, ovino, suino y roedores, todas las aves de corral, perros y gatos. El espectro de reservorios varía con la especie. *Campylobacter jejuni* tiene un reservorio amplio, mientras que *Campylobacter coli* es más frecuentemente aislado en suinos. La adquisición primaria del germen por los animales generalmente ocurre en etapa temprana de la vida.

El vasto reservorio es probablemente la fuente de la mayoría de las infecciones humanas. La vía de infección humana más frecuente, en relación a este reservorio, es el consumo de carne obtenida de animales infectados. La leche no pasteurizada también constituye un vehículo frecuente de infección.

Otra vía de infección humana menos frecuente es el contacto con animales infectados, ya sea con animales domésticos o como accidente ocupacional en personas expuestas al ganado.

Los animales y sus productos derivados han sido identificados de forma precisa como fuentes de infección humana en brotes de *Campylobacteriosis* (15), y muchos serotipos humanos han sido aislados también en animales.

Reservorios humanos:

Como sucede con otras infecciones entéricas, la vía de transmisión fecal-oral entre individuos infectados es posible, en especial entre niños sin control esfinteriano o en ambiente con malas condiciones sanitarias. La transmisión a partir de personas infectadas asintomáticas que manipulan los alimentos es extremadamente rara, pero es frecuente cuando la infección es sintomática (varia desde una diarrea ligera hasta una severa diarrea mucosa y sanguinolenta), lo que justifica la exclusión de tales trabajadores del entorno laboral mientras se encuentran afectados.

Muy raramente se han reportado: infecciones adquiridas en el laboratorio; transmisión perinatal “in útero”, durante el pasaje a través del canal del parto o durante los primeros días de vida; y la vía transfusional a partir de pacientes infectados (un caso documentado) (16).

Es más común en hospederos inmunocomprometidos desarrollar una diarrea inflamatoria, que dura aproximadamente de 3-5 días. Una importante pregunta es qué determina la diferencia en la virulencia de estos organismos en humanos comparados con sus hospederos habituales, esto se debe a los mecanismos de colonización en cada uno de ellos.

Reservorios ambientales:

El agua contaminada puede ser la fuente de brote de *Campylobacteriosis*, sobre todo por el consumo de la misma y en vinculación con actividades recreacionales. También, bajo condiciones que favorecen la replicación del germen, la contaminación fecal del suelo puede ser origen de infección humana, principalmente por el consumo de vegetales cosechados en ellas.

En los países industrializados el microorganismo se transmite principalmente a través de alimentos de origen animal (el consumo de carne de ave de corral mal cocida es responsables del 50-70% de las infecciones esporádicas), mientras que en los países menos desarrollados predominan la transmisión por alimentos y aguas contaminadas con excretas así como el contacto directo con personas o animales enfermos.

La transmisión de *Campylobacter jejuni* se ve minimizada a temperatura ambiente o menor; además los alimentos no constituyen un sustrato favorable para su desarrollo. Estos dos hechos sugieren que la ocurrencia de ETA por este agente refleja condiciones muy inadecuadas en el manejo de los alimentos (mala refrigeración, malas condiciones de higiene, etc).

Por otra parte, en todas partes del mundo el número de casos aumenta en el verano y principios de otoño, coincidiendo con el aumento de la temperatura ambiental (17).

1.7. PROCESOS CLÍNICOS ASOCIADOS A *Campylobacter*

Las especies de *Campylobacter sp.* son altamente infecciosas. La dosis infecciosa de *Campylobacter jejuni* va de 500 a 10 000 células, en función de la cepa, el daño de las células por el estrés ambiental y la susceptibilidad del huésped (9). Sólo los *Campylobacter* mesófilos como el *Campylobacter fetus* es normalmente invasivo, las especies termófilas (máximo 42°C) como *Campylobacter jejuni* son en ocasiones invasoras. Las infecciones se manifiestan como meningitis, la neumonía, el aborto involuntario, y una forma grave de síndrome de Guillain-Barré (18).

1.7.1. FISIOPATOLOGÍA DE LA INFECCIÓN POR *Campylobacter* EN HUMANOS

El daño al hospedero y las manifestaciones clínicas dependen principalmente de dos factores: el inóculo ingerido y el estado inmunológico del hospedero por lo que no todas las infecciones son sintomáticas, y la incidencia varía de 40 a 100 si la persona es inmunocomprometida. Un episodio de fiebre antecede a la enfermedad diarreica hasta en 48 horas, sugiriendo que los efectos inflamatorios anteceden a la disminución de la función intestinal que causa la diarrea, como respuesta inflamatoria se evidencia infiltración de neutrófilos y células mononucleares al epitelio basal y la lámina propia. Con el tratamiento antibiótico adecuado la enfermedad durará una semana aunque la excreción del microorganismo durará unos 16 días que es lo normal cuando el sistema inmune es competente. En personas inmunocomprometidas, especialmente con una deficiencia de inmunoglobulina (persona ancianas) se desarrolla una severa y persistente enfermedad extraintestinal. En países desarrollados la infección por *Campylobacter* es común en niños menores de dos años que pueden presentar de 5 a 10 episodios sintomáticos, sin embargo la proporción infección/enfermedad y duración de la colonización disminuye con la edad lo que hace sospechar el desarrollo de cierta inmunidad, además estos datos harían suponer que en las cepas de *Campylobacter* existan antígenos cruzados inmunogénicos lo que haría factible el desarrollo de una vacuna (19).

La enfermedad es infrecuente si este inóculo es menor que 10^4 , el período de incubación sería de 1 - 7 días, aunque 24 - 48 horas es lo usual.

El principal mecanismo de patogenicidad es la invasión de la mucosa intestinal, en forma similar a como lo hace *Shigella sp.* La invasión de la lámina

propia se observa tanto a nivel del intestino delgado como del colon, y el resultado es generalmente una enterocolitis inespecífica, que puede incluir los siguientes hallazgos: degeneración y atrofia glandular, pérdida de la producción de mucus, abscesos de las criptas y ulceración de la mucosa epitelial. En otros casos, las características patológicas son similares a las observadas en las infecciones por *Salmonella* y *Shigella*.

Parece evidente que el lipopolisacárido de la pared bacteriana, con actividad endotóxica típica, desempeña un rol central en el daño inflamatorio, aunque se han reconocido una toxina termo-lábil similar a la de *Vibrio cholerae* y varias citotóxicas, la producción in vivo e in vitro de estas parece de bajo nivel por lo que se duda que tenga alguna significación en la patogenia.

Se cree que *Campylobacter* puede jugar un papel en el Síndrome de Guillain-Barré por un mecanismo que involucraría la similitud entre el ácido siálico de algunos antígenos O y los gangliósidos humanos (19).

Factores de virulencia Bacteriana:

Flagelo:

Campylobacter sp. contiene uno o dos flagelos polares, que causan la movilidad típica observada en el microscopio y la apariencia de las colonias en las placas de agar, este flagelo consta de multímeros de proteína "flagelina" que es parte de la estructura basal, que sirve como motor de rotación, este ayuda a la bacteria a sobrellevar el movimiento peristáltico, además de permitirle entrar y atravesar la capa mucosa tapizando el epitelio.

El flagelo también es un blanco del sistema inmunitario demostrado por la inmunodominancia de flagelina y la seroconversión posterior a la infección. Los anticuerpos resultantes protegen contra cepas homólogas, pero sólo parcialmente. El gen que codifica la flagelina esta presente en el genoma en dos copias.

Producción de toxina

Este mecanismo de virulencia esta relacionado con exotoxinas, que pueden ser llamadas enteroroxinas (toxina citotónica) o citotoxinas (todas la toxinas de origen proteico). La enterotoxina a sido muy estudiada por su actividad citotóxica a bajos títulos, en recientes estudios se han clasificado al menos 6 clases de toxinas.

Asociación celular

Campylobacter puede sobrevivir como bacteria de vía libre en la capa mucosa o invadir el epitelio. Antes de invadir la bacteria puede atacar las células epiteliales, sus flagelos poseen propiedades adherentes al no poseer fimbrias.

Invasión

La invasión bacteriana sobre las células epiteliales trae como consecuencia la disminución del funcionamiento de estas y diarrea, este sigue un mecanismo propuesto los cuales indican que la síntesis de proteínas es requerida para la invasión llegando a sintetizar hasta 14 proteínas, notándose un crecimiento celular, de las cuales 9 son inmunogénicas.

Lipopolisacárido (LPS)

Como toda bacteria Gram negativa el lípido A componente del lipopolisacárido de *Campylobacter* tiene actividad endotóxica. La infección sistémica puede llevar a sepsis o shock dependiendo de los niveles de LPS presentes. El LPS de *Campylobacter* tiene uno de los posibles antígeno O basado en la estructura sacárida, estos antígenos O pueden ser representados por cadenas poli u oligosacáridas, entonces *Campylobacter* puede producir LPS u lipooligosacáridos o ambos. El núcleo oligosacárido puede contener ácido N-acetilneuramínico o ácido siálico que raramente se encuentra en LPS bacteriano, pero es constituyente común de glicoproteína y gangliósidos de vertebrados. Por lo que es presumible que la estructura lipooligosacáridos sobre la superficie de serotipos particulares de *Campylobacter* pueda mediar un ataque auto-inmune contra el tejido nervioso periférico vía imitación molecular.

Factores que determinan la gravedad de la infección

La bacteria puede circular eventualmente dentro de los fagocitos por leucocitos o macrófagos en el sistema reticuloendotelial hasta por 7 días, esto explica el alargamiento y la complicación de la bacteremia.

Respuesta del hospedero

La consecuencia de la infección de *Campylobacter* esta esclarecido, la asociación de *Campylobacter* con las células epiteliales induce la secreción de IL-8, una citoquina pro-inflamatoria que enlista células fagocíticas. Tal como la respuesta inmune innata a la infección puede ser parcialmente responsable de

los síntomas. La colonización asintomática ocurre en adultos y niños altamente expuestos previamente, indicando que el hospedero humano puede proveer una barrera adaptativa que limita el desarrollo de la enfermedad.

Diagnóstico de laboratorio:

El examen directo de las heces es una herramienta de utilidad en la investigación inicial del paciente con enteritis. La microscopia de campo oscuro o de contraste de fases, sobre todo en la fase aguda de la enfermedad, puede revelar la movilidad característica de *Campylobacter* que aporta un diagnóstico presuntivo en forma rápida. También puede observarse frotis teñidos por técnica de Gram modificado para observar bacilos Gram-negativos sugestivos del germen, pero la sensibilidad de este método es del 50-75%. La microscopia directa también sirve para demostrar hematíes y polimorfonucleares que están presentes en las heces de la mayoría de pacientes con eventos por *Campylobacter*.

El diagnóstico se confirma mediante el aislamiento del germen en medios especiales, según ya se describió. Se debe señalar que el cultivo cobra especial importancia en el diagnóstico de enfermedad sistémica ya que es la única forma de demostrar bacteremia (19).

1.7.2. INFECCIONES EXTRAINTESTINALES

Clínicamente *Campylobacter* causa gastroenteritis que generalmente casi no se distinguen con *Salmonella* y *Shigella*. Sin embargo secuelas crónicas de la infección de *Campylobacter* son: desordenes reumatológicos o neuropatías periféricas. La artritis reactiva como consecuencia de la infección ha sido reportada en numerosos casos por Skirrow y Blazer, aunque poco se conoce de esta patogénesis. En suma *Campylobacter* es reconocido como infección precedente del síndrome de Guillain-Barré (GSB). El GSB esta frecuentemente precedido de un numero de procesos infecciosos incluyendo infecciones de origen bacteriano o viral en la mayoría de los casos, los agentes involucrados en infecciones precedentes a GSB son: *C. jejuni*, *Mycoplasma pneumoniae*, *cytomegalovirus*, *Epstein-Barr virus*, *varicella-zoster virus*, y vacunas (rabia, influenza, etc.).

Además de los estudios clínicos, hay fuentes biológicas que evidencian el papel de *Campylobacter* en la patogénesis de GSB, se le relaciona con el serotipo estable al calor HS:19 presente en el 52% de los casos de pacientes con GSB,

otro de los serotipos como el HS:41 han emergido como única cepa patógena en pacientes con GBS. Los pacientes con GBS frecuentemente desarrollan anticuerpos antigangliosidos. Los gangliosidos son glicosfingolípidos caracterizados por presentar ácido sialico (*N-acylneuraminic acid*) unido al núcleo oligosacarido.

El papel de los anticuerpos antigangliosidos en la patogénesis de GBS no es totalmente claro, pero el daño del anticuerpo mediado por el complemento esta dirigido a la mielina de los nervios periféricos y axones, pero recientemente demostraron que anticuerpos reactivos con GQ1b, GT1a y GD3 causan bloqueo de la neurotransmisión en un modelo muscular ex vivo (20).

1.8. ANTECEDENTES DE LA PRESENCIA DE *Campylobacter*

1.8.1. INTERNACIONALES

En Caracas, Venezuela, se estudió a todos los niños menores de dos años de edad con diarrea aguda que acudieron a consulta en los Hospitales de José Miguel de los Ríos y Miguel Pérez Carreño, durante el periodo comprendido entre junio de 1982 y mayo de 1983. Cabe resaltar que ambos hospitales atienden principalmente a personas de nivel socioeconómico bajo.

La muestra estuvo conformada por 196 niños y para propósitos de comparación estudiaron también un grupo testigo formado por 27 niños afectados por otra enfermedad y con características similares en cuanto a edad, sexo y procedencia. Los agentes más frecuentemente aislados en el grupo de enfermos fueron: *Escherichia coli* enterotóxigena (41,8%), *Rotavirus* (14,1%), *Escherichia coli* enteropatógena (12,2%), *Klebsiella pneumoniae* (11,2%) y *Campylobacter jejuni* se identificó en 18 enfermos (9,2%) ocupando el quinto lugar en frecuencia, por delante de *Escherichia coli* enteroinvasora (5,1%), *Salmonella* sp (2,0%) y *Shigella* sp (2,0%). *Campylobacter jejuni* se encontró como agente único en 12 niños (66,7%), en los cuales se identificaron como manifestaciones clínicas más frecuentes: la diarrea con moco y sangre, vómito, dolor abdominal y fiebre; sólo en tres casos se comprobó deshidratación. Hubo predominio de la infección por *Campylobacter jejuni* durante la temporada de lluvia y calor (21).

El Instituto de Salud Pública de Chile juntamente con la Facultad de Medicina de la Universidad de Chile determinaron comparativamente la prevalencia de enteropatógenos bacterianos y virales en un grupo de lactantes hospitalizados por diarrea aguda con deshidratación moderada a severa, en relación a un grupo de lactantes que acudieron por diarrea aguda al consultorio y se trataron en forma ambulatoria, en un estudio prospectivo en dos periodos estivales, con el objetivo de definir cuales son los agentes responsables de los casos más severos. Trabajaron en los periodos comprendidos entre noviembre de 1982 a marzo de 1983 y de noviembre de 1985 a marzo de 1986. Se consideraron a los niños menores de dos años de estrato socio-económico bajo con diarrea aguda y niños controles que no habían recibido antimicrobianos durante los últimos siete días. En el grupo de niños que necesitaron hospitalización los principales agentes identificados en los dos periodos de estudio fueron *Escherichia coli* enterotoxigénica, *Shigella*, y *Rotavirus*. En los pacientes ambulatorios los principales agentes encontrados fueron *Escherichia coli* enterotoxigénica, *Shigella* y *Campylobacter*. Además se observó que las infecciones por *Shigella* y *Campylobacter* aumentaban su frecuencia en lactantes mayores de seis meses en forma significativa (22).

En Ankara, Turquía, en el Departamento de Microbiología de la Universidad de Hacettepe se realizó un estudio comprendido en un periodo de cuatro meses y medio; del 14 de julio al 30 de noviembre de 1988; donde fueron examinadas 340 muestras fecales de niños con enteritis aguda y 100 controles de niños sanos. Para este estudio fueron considerados los niños desde días de nacidos hasta los catorce años cumplidos. De los patógenos examinados, *Campylobacter sp.* fue la especie mas frecuentemente aislada, habiendo sido encontrados en 36 muestras (10.6%). El porcentaje de aislamiento de niños con *Campylobacter enteritis* fue más alto en niños de uno a cuatro años de edad. Los resultados de este estudio evidencian que *Campylobacter sp.* esta entre las bacterias patógenas más frecuentes, causantes de enteritis en Turquía. En 33 de los 36 casos con infección por *Campylobacter sp.*, fue aislado como único patógeno y en 3 casos fue encontrado a *Campylobacter sp.* asociado a otros enteropatógenos. El porcentaje de aislamiento de *Campylobacter jejuni/coli* de pacientes con diarrea fue del 10.6%. Los síntomas más comunes encontrados en la infección con *Campylobacter sp.* fueron: diarrea en el 100% de los casos, fiebre en el 44.4% de los casos y dolor abdominal en el 38.8% de los casos. Este estudio

sugiere que *Campylobacter sp.* puede ser el agente causante más común de enteritis en niños de Turquía (23).

En la región de Ribeirao Preto-SP, Brasil, se realizó un estudio, por un periodo de 4 años (Enero del 1994 a diciembre del 1997), con el objetivo de caracterizar a los principales enteropatógenos causantes de diarrea en niños. De 1836 muestras; 946 muestras de pacientes ambulatorios y 890 muestras de pacientes hospitalizados; correspondientes a niños menores de 10 años con diarrea, obtuvieron que *Escherichia coli* y *Campylobacter sp.* eran los enteropatógenos comúnmente más asociados con otros microorganismos. Se encontró que de los enteropatógenos aislados, de infecciones simples o múltiples, el más frecuente fue *Escherichia coli* enteropatógena (8.7%); constituyendo el agente etiológico más importante de diarrea en la región de Ribeirao Preto-SP. El segundo agente etiológico más frecuentemente aislado fue *Shigella sp.*, *Campylobacter sp.* fue el tercer enteropatógeno encontrado en este estudio, siendo más frecuente que *Salmonella sp.* como causa de enteritis, además la mayor incidencia de *Campylobacter sp.* ocurrió en niños entre cero y cuatro años (24).

Entre abril de 1998 y marzo del 2000, en seis condados de la Isla de Trinidad, se realizó un estudio transversal para determinar la frecuencia y las características de ciertos enteropatógenos detectados en niños con diarrea, donde recolectaron especímenes de heces e hisopados rectales de niños menores de 12 años los cuales procesaron usando métodos estandarizados para la detección de *Salmonella sp*, *Shigella sp*, *Escherichia coli* enteropatógena, *Campylobacter sp*, *Yersinia sp*, *Cryptosporidium parvum* y huevos de parásitos. Procesaron 236 muestras en total, de las cuales obtuvieron que el 14% eran positivos para *Shigella*, 1,7% para las *Salmonella*, 0,8% resultó positivo para *Campylobacter jejuni* y el 0,4% para *Escherichia coli* enteropatógena. Concluyeron que de los enteropatógenos investigados, *Shigella sonnei* fue el más frecuente y quizá el principal agente causal de la diarrea infantil en Trinidad (25).

La Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad de Buenos Aires, Argentina, realizó un estudio en el periodo de abril de 1999 a marzo del 2000, en un barrio de nivel socioeconómico bajo, con viviendas precarias, alto hacinamiento y desocupación. Para este estudio se tomaron en cuenta los animales domésticos, alimentos (elaborados, semielaborados o naturales

destinados al consumo humano) y los casos de diarrea aguda en niños menores de seis años. En la Unidad Sanitaria del barrio en estudio encontraron una tasa de incidencia de diarrea con demanda de atención médica de 4,41‰ niños/mes y una tasa de incidencia de diarrea por *Campylobacter jejuni* para este grupo de 0,40‰ niños/mes. Además en animales domésticos sólo se encontraron casos de diarrea en caninos, de los cuales en el 15,38% de las muestras de estos animales se aislaron *Campylobacter jejuni*, aunque no encontraron una asociación estadística entre la diarrea y la presencia del agente (26).

En la Facultad de Medicina de la Universidad de Zulia, Venezuela, en el año 2002, procesaron 366 muestras de heces frescas provenientes de niños menores de cinco años, quienes habían asistido a las emergencias de los centros hospitalarios de los municipios de Mara, Maracaibo y Cabimas, durante un periodo de cuatro meses. *Campylobacter jejuni* ocupó el cuarto lugar en frecuencia etiológica (14,29%). En este estudio también se aprecia que la más alta incidencia de aislamientos de enteropatógenos se ubicó en el grupo etario de 0-24 meses, con un 83,33%. Los resultados obtenidos en esta investigación mostraron un 13,38% de positividad para bacterias enteropatógenas, responsables de cuadros diarreicos en niños menores de cinco años de edad (27).

En Rawalpindi e Islamabad, entre agosto y noviembre del 2002, el Departamento de Microbiología de la Universidad Médica del Ejército y del Hospital Militar realizaron un estudio con el objetivo de determinar la frecuencia de infección por *Campylobacter jejuni* en niños con diarrea disintérica. Las muestras recogidas fueron transportadas en envases que contenían medio de Cary Blair. Sembraron las muestras en medios selectivos para *Campylobacter* e incubaron las placas a 42°C por 48 horas en condiciones de microaerofilia. Las especies fueron identificadas por las siguientes pruebas bioquímicas: hidrólisis del hipurato, prueba de la ureasa, reducción de nitratos, prueba de la catalasa, producción de H₂S, y la resistencia a la cefalotina. El 18% de las muestras presentaron crecimiento de *Campylobacter jejuni*. La edad media de niños con infección por *Campylobacter jejuni* encontrada fue de 18 meses con incidencia máxima a partir de 12 a 21 meses. El cociente femenino-masculino fue de 1.7-1, además en la mayoría de los casos referían haber consumido carne de pollo, haber tenido contacto con animales de granja o animales domésticos. Concluyeron que una de las causas más frecuentes de diarrea

disentérica en niños, de su población, era la infección por *Campylobacter jejuni*. Además existe una relación entre los niños expuestos a animales domésticos y al consumo de pollo (a la vez o de manera independiente) y la diarrea disentérica causada *Campylobacter jejuni* (28).

En la Isla de Barbados, El Caribe, se realizó un estudio longitudinal, de la incidencia de *Campylobacter sp.* asociado a enteritis. Los datos fueron tomados desde enero del 2000 hasta agosto del 2003. La incidencia de *Campylobacter sp.* fue significativamente alta para el grupo etéreo de 0-4 años de edad en comparación con otros grupos etéreos. Más del 50% de casos reportados de *Campylobacter enteritis* ocurrieron en niños menores de cinco años de edad. Durante el periodo de estudio hubieron cortos picos de incidencia de infección por *Campylobacter sp.* en Marzo, desde Junio hasta agosto y durante noviembre y diciembre; 44 sospechas de *Campylobacter sp.* fueron recibidas en el laboratorio, de las cuales 28 (63.6%) fueron *Campylobacter jejuni*, 14 (31.8%) fueron *Campylobacter coli* y 2 (4.6%) no fueron identificadas. El número de casos de *Campylobacter sp.* reportados excedió a los casos de *Shigella* reportados pero fue menor a los casos de *Salmonella* (29).

1.8.2. NACIONALES

El Instituto de Investigación Nutricional, Lima, Perú, realizó un estudio de la epidemiología y etiología de la diarrea en el periodo comprendido entre julio de 1982 y junio de 1984, en 153 lactantes pobres que residían en una comunidad peri urbana cerca de Lima. En el estudio se encontró cerca de 10 episodios de diarrea en el primer año de vida, estos episodios se asociaron con organismos tales como *Campylobacter jejuni*, *Escherichia coli* enteropatógena y enterotoxigénica, *Shigella*, *Rotavirus* y *Cryptosporidium*. Estos organismos parecen ser transmitidos a los lactantes en el hogar a través de las heces de los animales, a través del agua y de alimentos contaminados y por contacto directo de persona a persona. Un hecho importante es que la vía de transmisión puede haber sido los alimentos de destete, que a menudo son contaminados por la preparación inadecuada y la falta de limpieza de los utensilios. Finalmente, consideran que la mejora en las prácticas de alimentación, conjuntamente evitando el contacto con las heces de animales y la mejora de la higiene personal y doméstica son importantes intervenciones

para reducir la elevada incidencia de la diarrea en los lactantes en países en desarrollo (30).

Un estudio de comparación de casos-controles fue realizado en el periodo de enero de 1983 hasta abril de 1986, en Perú, para identificar los factores de riesgo y vehículos de transmisión de *Campylobacter sp.* como agente etiológico de diarrea pediátrica. En los casos se consideraron a niños de cualquier sexo menores de tres años de edad, quienes residían en los alrededores de Lima. Los niños seleccionados eran los pacientes ambulatorios que presentaban cuadros de diarrea aguda del Hospital San Juan de Dios, Callao, y del Hospital María Auxiliadora, Villa María del Triunfo. De las 1290 muestras sembradas, 104 muestras de estos patógenos correspondían a *Campylobacter jejuni* o *Campylobacter coli* y estos fueron comparados con controles de la misma edad que no padecían de gastroenteritis. Las familias que criaban pollos estaban expuestas a la infección, considerándose este hecho como un factor de riesgo importante. Las familias de los casos tenían una alta frecuencia de la infección comparados a las familias controles quienes no estaban expuestos a vivir con pollos. Las infecciones se daban con mayor incidencia en los más jóvenes de la familia y con mayor énfasis en los infantes, sugiriendo que la inmunidad a la infección puede ser adquirida de manera natural. Los factores de riesgos identificados en este estudio sugieren que el contacto directo con heces de pollos infectados con *Campylobacter jejuni/coli* que viven en los ambientes familiares fueron en su mayor parte responsables de la transmisión de este microorganismo, siendo la población más susceptible los infantes (31),

La Universidad Peruana Cayetano Heredia, el Instituto de Investigación Nutricional y PRISMA – Proyectos en Informática, Salud, Medicina y Agricultura, desarrollaron un estudio en dos pueblos jóvenes: Huáscar, Canto Grande y en Las Pampas de San Juan, en San Juan de Miraflores, en Lima. En estos pueblos jóvenes la mayoría carecía de instalaciones eléctricas y el agua era un recurso escaso. En Huáscar se observó; para el estudio; a 21 niños menores de cinco años, además todas las familias contaban con al menos un niño menor de 2 años y con aves de corral no acorralados, la mayor parte del día. Se utilizaron técnicas de observación directa para medir la frecuencia con que los niños fueron contaminados con las heces de las aves de corral en los barrios mencionados. El número medio de aves de corral fue de 5,4 con 10,0 defecaciones de estas aves por cada doce horas. Los niños y el contacto directo con heces de aves de corral se produjo con una ocurrencia de 2,9 por

cada doce horas. Una media de 3,9 episodios de heces a la boca por hora en grupo familiar/12 horas, producido tanto de manera directa a la boca e indirectamente por la contaminación de algún objeto que luego es introducido a la boca. Además recogieron heces de pollos infectados y encontraron 68 de estas muestras con *Campylobacter jejuni* viables durante un máximo de 48 horas después de la deposición. Sin embargo una encuesta a 108 familias destacó que la libre crianza de aves de corral era considerada como un factor de riesgo para la salud de los niños del grupo familiar (32).

En 1993, un estudio realizado por el Instituto Nacional del Niño, en Lima con niños menores de 10 años mostró que *Campylobacter jejuni* es uno de los principales agentes etiológicos de diarrea, siendo los lactantes de un año de edad, o más jóvenes, los más susceptibles. Además se describe a la enfermedad como moderadamente grave a pesar que más del 50% de los pacientes necesitaron terapia de líquidos intravenosos. *Campylobacter sp.* también resultó ser más frecuente en pacientes desnutridos, que provienen de grupos socio-económicamente desfavorecidos, con el hacinamiento, las malas condiciones de salubridad y un contacto frecuente con aves domesticas y los animales. El comportamiento estacional sugiere que la diarrea causada por *Campylobacter* es endémica en esta zona (33).

Entre abril y octubre del 2001, se realizó un trabajo transversal analítico donde incluyeron a todos los niños menores de dos años con diarrea aguda acuosa atendidos en cuatro centros de salud del distrito de La Victoria, obteniendo un total de 248 casos de los cuales 48 (19,4%) coprocultivos fueron positivos: 33 (13,3%) a *Campylobacter sp.*, 12 (4,8%) a *Shigella sp.* y 3 (1,2%) a *Salmonella sp.*. No encontraron diferencias entre los grupos etáreos para presentar diarrea acuosa de origen bacteriano, sea *Campylobacter* o *Shigella*. Tampoco encontraron diferencias en la etiología de la diarrea bacteriana respecto al sexo del menor, al grado de instrucción u ocupación de la madre o responsable y presencia o no de hacinamiento en el hogar (34).

II. PARTE EXPERIMENTAL

1. EQUIPOS, MATERIALES, MEDIOS DE CULTIVO Y REACTIVOS.

1.1. EQUIPOS

- Estufa de 42°C y de 37°C.
- Autoclave, para esterilización de los medios de cultivo.
- Horno de 200°C, para esterilización del material de vidrio.
- Refrigeradora
- Microscopio
- Balanza

1.2. MATERIALES

- Placas Petri
- Jarra de anaerobiosis
- Tubos de ensayo
- Pastillas de Alka Seltzer efervescente
- Vela
- Termómetro
- Hisopos estériles.
- Sangre de carnero.
- Suplemento de aerotolerancia FBP (ver anexo 1)
- Suplemento selectivo de Butzler para *Campylobacter* (Oxoid) (ver cuadro 2).
- Tubo #1 de la escala de Mac Farland.

1.3. MEDIOS DE CULTIVO

- Agar Base *Campylobacter*
- Medio de Transporte Cary Blair (contenido de agar 1.6g/litro)
- Agar Mac Conkey
- Agar triple azúcar hierro(TSI)
- Agar Lisina hierro(LIA)
- Caldo Tripticasa soja

1.4. REACTIVOS

- Set de Coloración Gram.
- Discos de sensibilidad antibiotica: Cefalotina y Ácido Nalidíxico.

- Mezcla de etanol/agua (1:1)
- Agua oxigenada 10 volúmenes.
- Hipurato de sodio al 1%
- Solución de ninhidrina (en butanol acetona 1:1) al 3.5%

2. METODOLOGÍA DE TRABAJO

2.1. RECOLECCIÓN DE MUESTRAS

Se tomó 230 muestras del Hospital de Emergencias Pediátricas y 175 muestras del Hospital Materno-Infantil San Bartolomé desde octubre del 2005 hasta enero del 2006. Las muestras constaban de hisopados de las heces de pacientes ambulatorios menores de cinco años con diarrea aguda tomadas aleatoriamente, fueron recolectadas en un envase plástico aséptico por el personal técnico del laboratorio, hisopadas y transportadas en medio Cary Blair. Se registró el código de la muestra designado por el hospital y se registro en la ficha epidemiológica (ver anexo 5).

2.2. PROCESAMIENTO DE LA MUESTRA

Las muestras fueron trabajadas dentro de las 2 horas de recolectadas. En algunos casos fueron guardados temporalmente en la refrigeradora (4° C) por no más de 18 horas.

2.2.1 Medio de cultivo para *Campylobacter*:

Se utilizó el medio base *Campylobacter* (Merck) siguiendo las instrucciones del fabricante, se le adicionó a este medio el Suplemento de aerotolerancia FBP (35). Se llevó a autoclavar el medio por 15 minutos a 121°C. Se dejó enfriar el agar hasta aproximadamente una temperatura de 46-50°C y se añadió en forma aséptica la sangre de cordero estéril (35ml por cada 500ml de agar base *Campylobacter*), se homogenizó y se añadió el suplemento selectivo de Butzler para *Campylobacter* previamente disuelto en 3 mL de una solución etanol: agua (1:1), agitando suavemente el agar. Se procedió a repartir en placas estériles.

2.2.2. Análisis Microbiológico:

Aislamiento de Campylobacter:

Se sembraron los hisopos de manera directa sobre las placas del medio de cultivo para *Campylobacter* formando trazos paralelos y oblicuos para obtener mayor dispersión y agotamiento con ayuda de un asa de siembra (35). Las placas se incubaron a 42° C por 48 horas en jarra con atmósfera de microaerofilia; con oxígeno reducido (5-10%) y dióxido de carbono añadido (3-10%); que se obtuvo utilizando una jarra con vela encendida y una pastilla de Alka Seltzer que fue colocada en una bolsita plástica con 10ml de agua destilada y pegada a la jarra con cinta adhesiva (36).

Luego del periodo de incubación, a las colonias de las placas con crecimiento se les realizó una coloración Gram "interrumpido" tal como se detalla en el anexo 2. La observación al microscopio se hizo con el objetivo de inmersión.

Aislamiento de enterobacterias:

En paralelo las muestras también fueron estriadas en agar Mac Conckey e incubadas a 37° C por 24 horas. Las colonias con coloración rojiza se consideraron lactosa positivas y las colonias cremas e incoloras fueron consideradas lactosa negativas. Ambos tipos de colonias se aislaron en otra placa de Mac Conckey y se incubaron a 37° C por 24 horas para su posterior identificación bioquímica.

2.3. PRUEBAS BIOQUÍMICAS

2.1. Pruebas Bioquímicas para identificación confirmativa de especies de *Campylobacter sp*

Las pruebas utilizadas para la identificación de especies de *Campylobacter* se muestran en el cuadro N° 4 y se detallan a continuación:

2.1.1. Catalasa:

Se tomó una colonia y se sumergió en una gota de solución 30% de peróxido de Hidrógeno sobre un portaobjetos limpio, el desprendimiento de burbujas es considerada una reacción positiva (35).

2.1.2. Sensibilidad al Ácido Nalidíxico y Cefalotina:

Se suspendió el microorganismo en solución fisiológica estéril hasta una densidad óptica del tubo # 1 de la escala de Mac Farland. Se sembró con hisopo sobre la superficie de las placas del medio de cultivo para *Campylobacter* y se colocó un disco de Ácido Nalidíxico 30 µg y un disco de Cefalotina 30 µg. Se Incubó a 42° C por 48 horas en condiciones de microaerofilia. La presencia de un halo de inhibición se interpreta como sensible para dicho antibiótico (35).

2.1.3. Hidrólisis de Hipurato:

Se emulsionó una asada abundante del cultivo bacteriano en el tubo que contiene 0.4mL de hipurato de sodio al 1%. Incubar por dos horas a 37° C y luego lentamente añadir 0.2mL del reactivo de ninhidrina, sin mover ni agitar el tubo y reincubar por diez minutos para la lectura. Un púrpura intenso se considera una reacción positiva. Las incolores se consideran negativas (35). La preparación de los reactivos para esta prueba se detalla en el anexo 3.

Cuadro N° 4

Prueba	<i>Campylobacter jejuni sp</i>	<i>Campylobacter coli</i>	<i>Campylobacter lari</i>
Catalasa	positivo	positivo	positivo
Sensib. Ácido Nalidíxico	S	S	R
Sensib. Cefalotina	R	R	R
Hidrólisis del Hipurato	positivo	negativo	negativo

S = Sensible R = Resistente

2.2. Pruebas bioquímicas para la identificación de enterobacterias:

Se tomó una porción de la colonia sospechosa lactosa positiva o lactosa negativa, previamente aislada en agar Mac Conckey; y se sembró por estría y profundidad en tubos de agar TSI y LIA, y finalmente en caldo triptonado. La diferenciación bioquímica se hizo según el cuadro N° 5 (37).

Cuadro N° 5

	TSI				LIA				Caldo TSB	Agar Mac Conckey
Especie	inclinado	profundo	gas	H ₂ S	inclinado	profundo	gas	H ₂ S	indol	lactosa
<i>E. coli sp</i>	A	A	+	-	K	K	-/+	-	+	+
<i>Shigella sp</i>	K	A	-	-	K	A	-	-	-	-
<i>Salmonella sp</i>	K	A	-	+	K	K	-	+	-	-

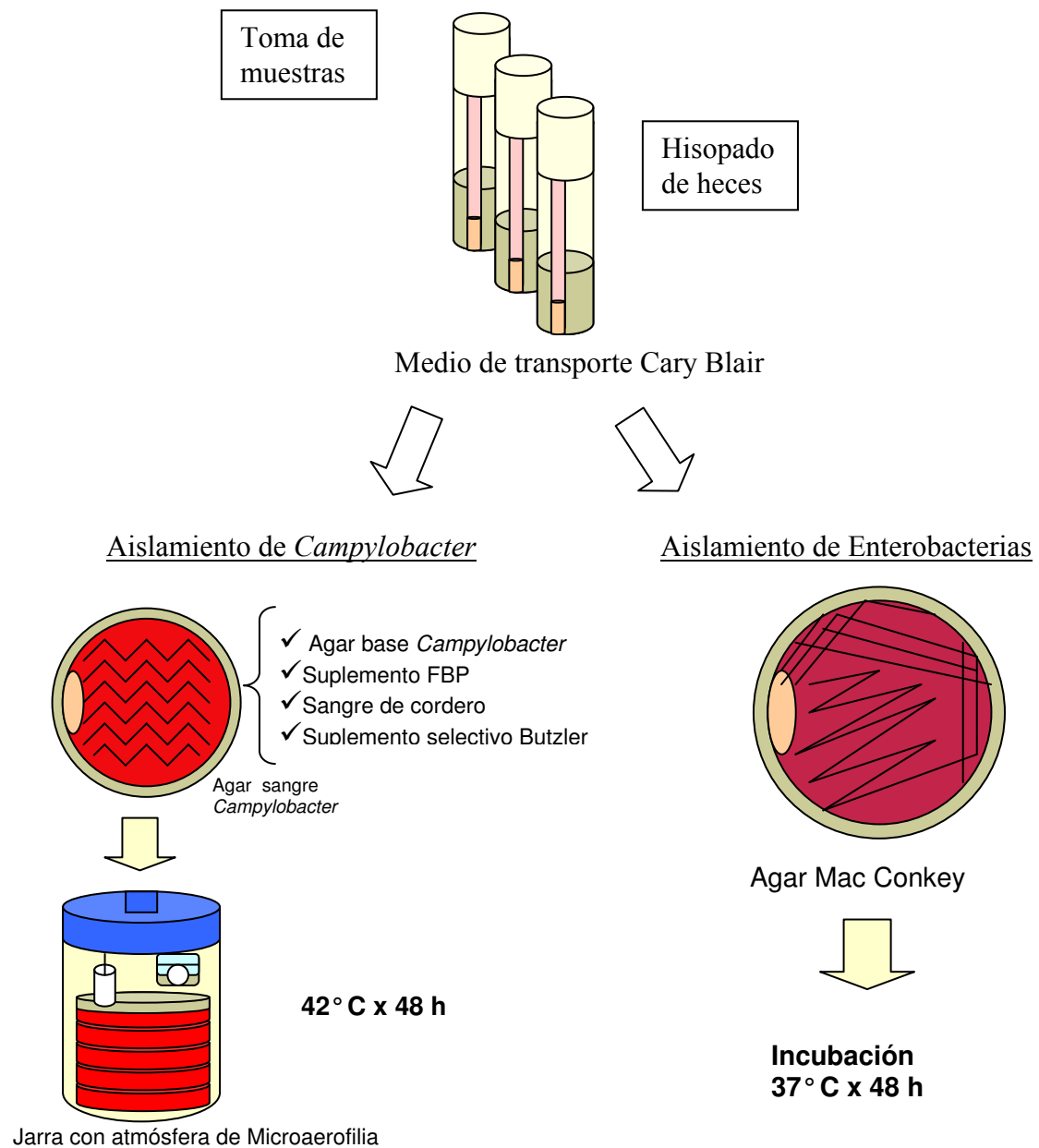
TSI: Agar triple azúcar hierro

LIA: Agar Lisina Hierro

A: Acido

K: Alcalino

TSB: Caldo tripticasa soya



Esquema de Procesamiento de las muestras recolectadas

DESPUÉS DE LA INCUBACIÓN

Agar sangre *Campylobacter*



Colonias sospechosas



Coloración GRAM



Campylobacter sp



Confirmación bioquímica
de especies

- ✓ Catalasa
- ✓ Sensibilidad Ácido Nalidíxico
- ✓ Sensibilidad Cefalotina
- ✓ Hidrólisis del hipurato

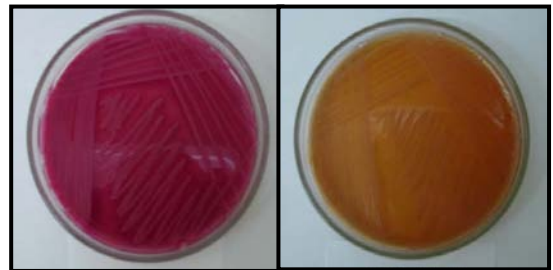
Agar Mac Conkey



Colonias lactosa positivas y lactosas
Negativas se aíslan en agar Mac Conkey



37° C x 24h



Colonias lactosas positivas

Colonias lactosas negativas



Pruebas bioquímicas

- ✓ TSI
- ✓ LIA
- ✓ INDOL



Escherichia coli

Salmonella sp

Shigella sp



Serología

RESULTADOS

Durante los meses de octubre del 2005 a enero del 2006 se captaron 405 casos de diarrea aguda en niños menores de cinco años, en dos hospitales de Lima. 230 casos (56.79%) corresponden al Hospital de Emergencias Pediátricas y 175 casos (43.20%) corresponden al Hospital San Bartolomé. La distribución de pacientes por edades se detalla en la tabla N° 1.

Tabla N° 1

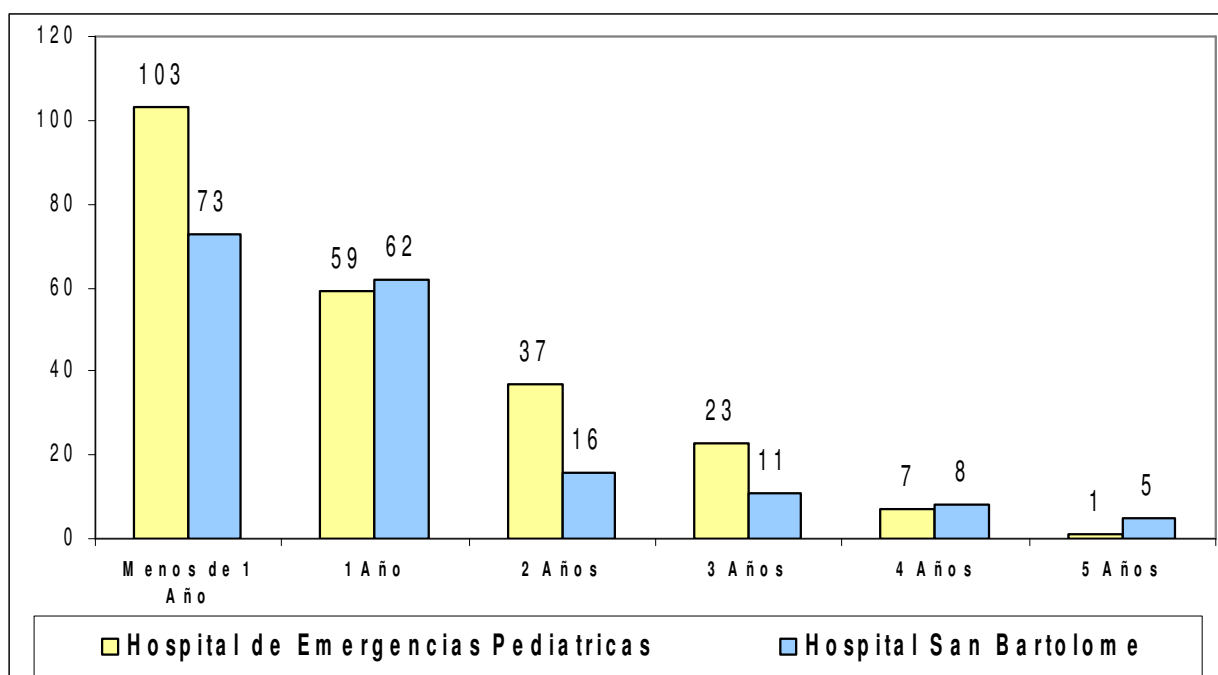
Distribución de Pacientes según Edades por Hospital

Edades	Centro Asistencial		Total	%
	Hospital de Emergencias Pediátricas	Hospital San Bartolomé		
Menos de 1 Año	103	73	176	43.46
1 Año	59	62	121	29.88
2 Años	37	16	53	13.09
3 Años	23	11	34	8.40
4 Años	7	8	15	3.70
5 Años	1	5	6	1.48
Total	230	175	405	100.00

En las edades de los pacientes categorizados de año en año que presentaron diarrea aguda, se observa en el gráfico N° 1 que el mayor número de casos de diarrea aguda (176) fluctúa entre los niños menores de 1 año y el de menor número de casos (6) en los de 5 años.

Gráfico N° 1

Distribución de Pacientes según Edades por Hospital



Los resultados del aislamiento de *Campylobacter sp.*, en ambos hospitales, se detalla en la tabla N° 2 y en el gráfico N° 2. Se encontró una incidencia de 0.091 (37 casos) de *Campylobacter sp.* La incidencia de diarrea aguda por otros enteropatógenos fue de 0.373 (151 casos).

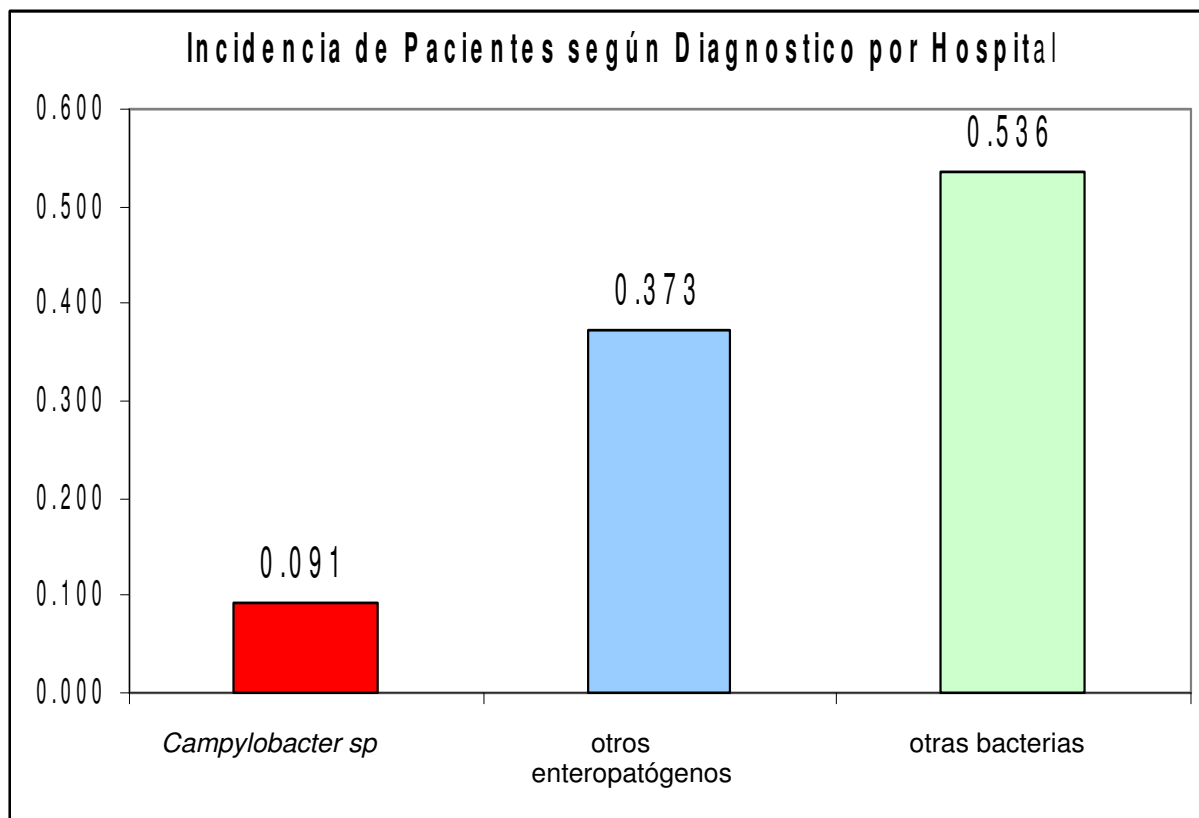
Tabla N° 2

Incidencia de *Campylobacter sp.* por Hospital

Diagnostico	Centro Asistencial		Total	I
	Hospital de Emergencias Pediátricas	Hospital San Bartolomé		
<i>Campylobacter sp</i>	24	13	37	0.091
Otros enteropatógenos	95	56	151	0.373
Otras bacterias	111	106	217	0.536
Total	230	175	405	1.000

I : Incidencia

Gráfico N° 2



En la tabla N° 3 y Grafico N° 3 se muestra el número de casos aislados de *Campylobacter sp* por grupo etáreo, se muestra que del total de casos de niños menores de un año (176), los casos positivos para *Campylobacter sp* fueron 20 (11.36%). Del total de casos de niños de 1 año (121), los casos positivos para *Campylobacter sp* fueron 13 (10.74%). Del total de casos de niños de 2 años (53), los casos positivos para *Campylobacter sp* fueron 3 (5.66%). Del total de casos de niños de 4 años (15), sólo se encontró un caso positivo para *Campylobacter sp*. En los niños de 3 y 5 años no se aislaron casos positivos para *Campylobacter sp*.

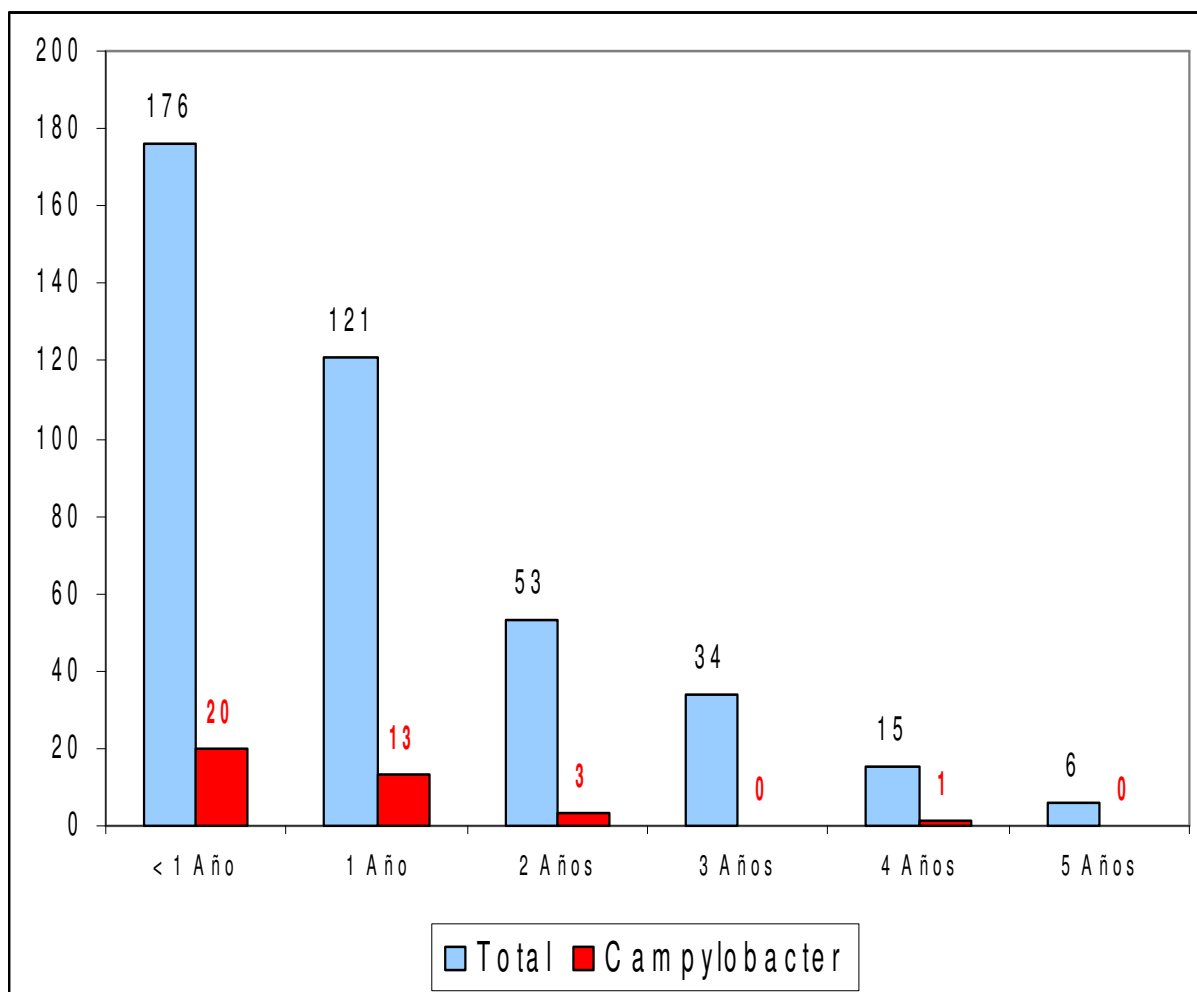
Tabla N° 3

Casos encontrados de *Campylobacter sp* del total según grupo etáreo

Diagnostico / edades	< 1 Año	1 Año	2 Años	3 Años	4 Años	5 Años	Total
<i>Campylobacter sp</i>	20	13	3	0	1	0	37
Otros enteropatógenos	68	37	21	18	5	2	151
Otras bacterias	88	71	29	16	9	4	217
total	176	121	53	34	15	6	405

Grafico N° 3

Casos encontrados de *Campylobacter sp* del Total según grupo etareo



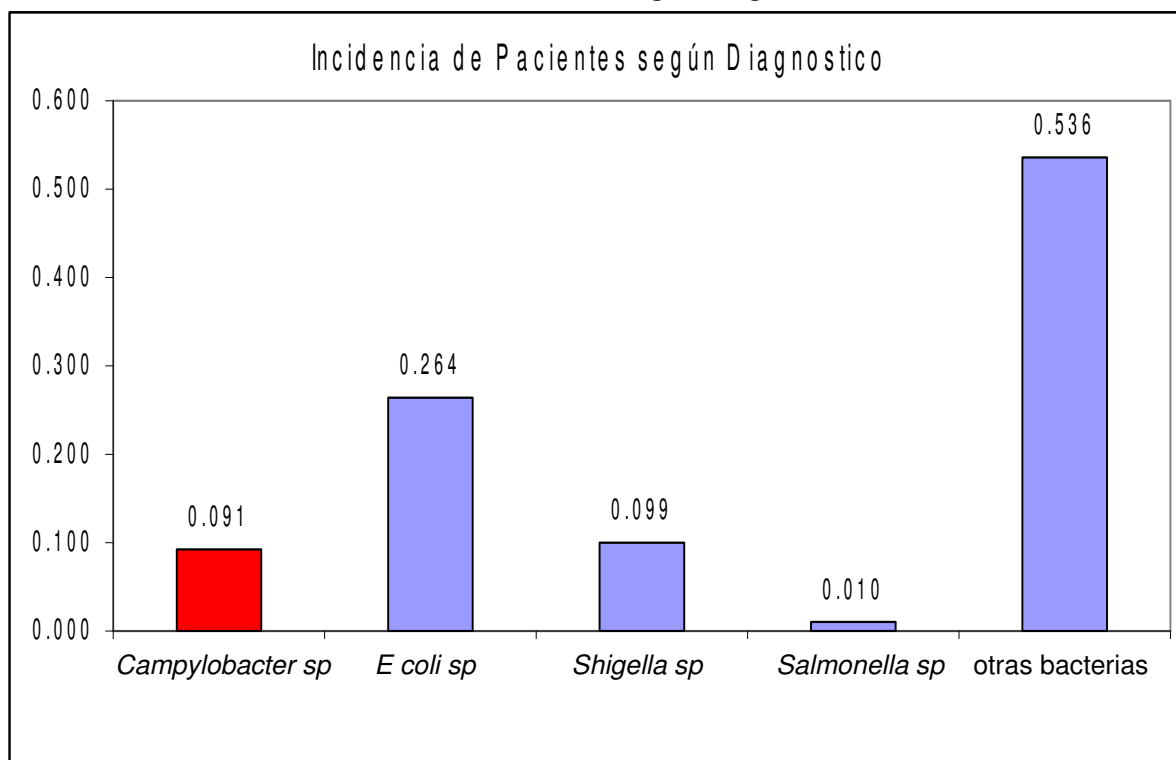
En la tabla N° 4 se observa que la mayor incidencia, como causa de diarrea, corresponde en ambos Hospitales a *Escherichia coli sp.* con una incidencia de 0.264. Otros causantes de diarrea, diferentes a los enteropatógenos investigados en el presente estudio, se encontró con una incidencia de 0.536.

Tabla N° 4
Incidencia de Pacientes según Diagnostico por Hospital

Diagnostico	Centro Asistencial		Total	I
	Hospital de Emergencias Pediátricas	Hospital San Bartolomé		
<i>Campylobacter sp.</i>	24	13	37	0.091
<i>E coli sp.</i>	54	53	107	0.264
<i>Shigella sp</i>	38	2	40	0.099
<i>Salmonella sp</i>	3	1	4	0.010
Otras bacterias	111	106	217	0.536
Total	230	175	405	1.000

Campylobacter sp. se encontró en tercer lugar como causante de diarrea aguda en menores de cinco años con una incidencia de 0.091 superando a *Salmonella sp.* con una incidencia de 0.010, pero debajo de *Shigella sp.* que se encontró una incidencia de 0.099, tal como se muestra en el gráfico N° 4.

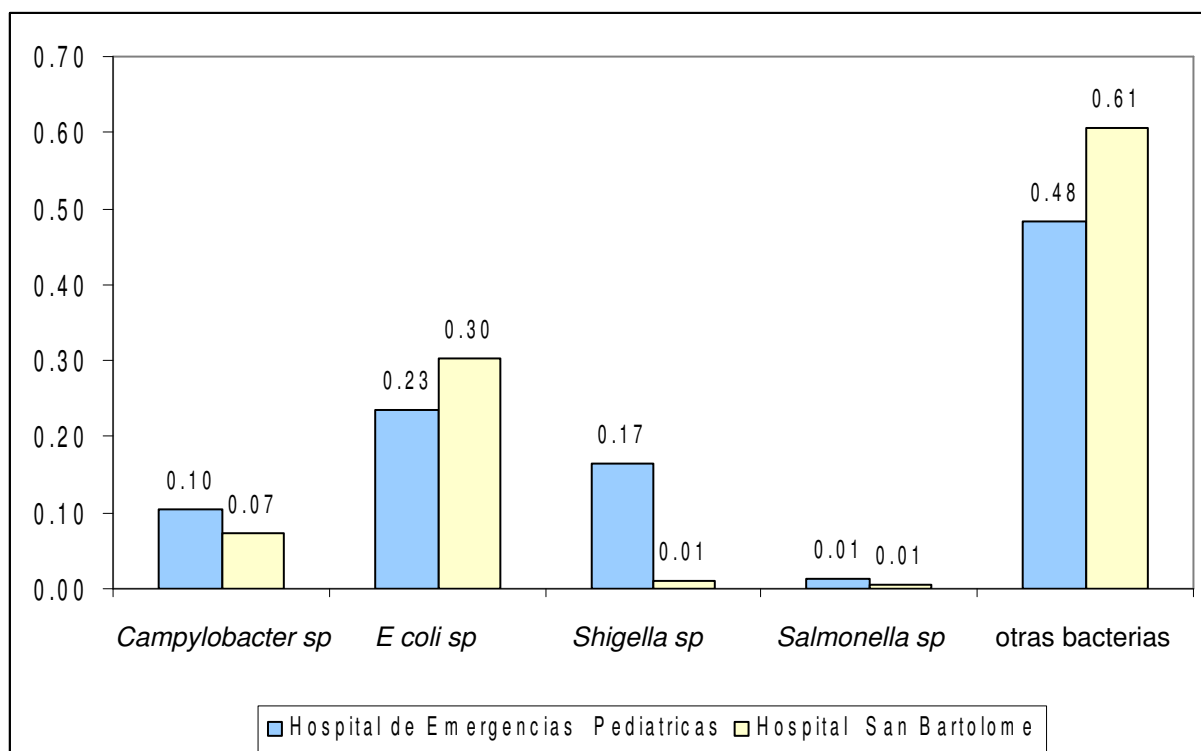
Grafico N° 4
Incidencia de Pacientes según Diagnostico



En gráfico N° 5 muestra que para ambos hospitales se obtuvieron resultados similares de la incidencia de los agentes etiológicos estudiados. Excepto en el caso de *Shigella sp.* con una incidencia de 0.17 en el Hospital de Emergencias Pediátricas y con 0.01 para el Hospital San Bartolomé.

Gráfico N° 5

Incidencia Comparativa de Pacientes según Diagnostico por Hospital

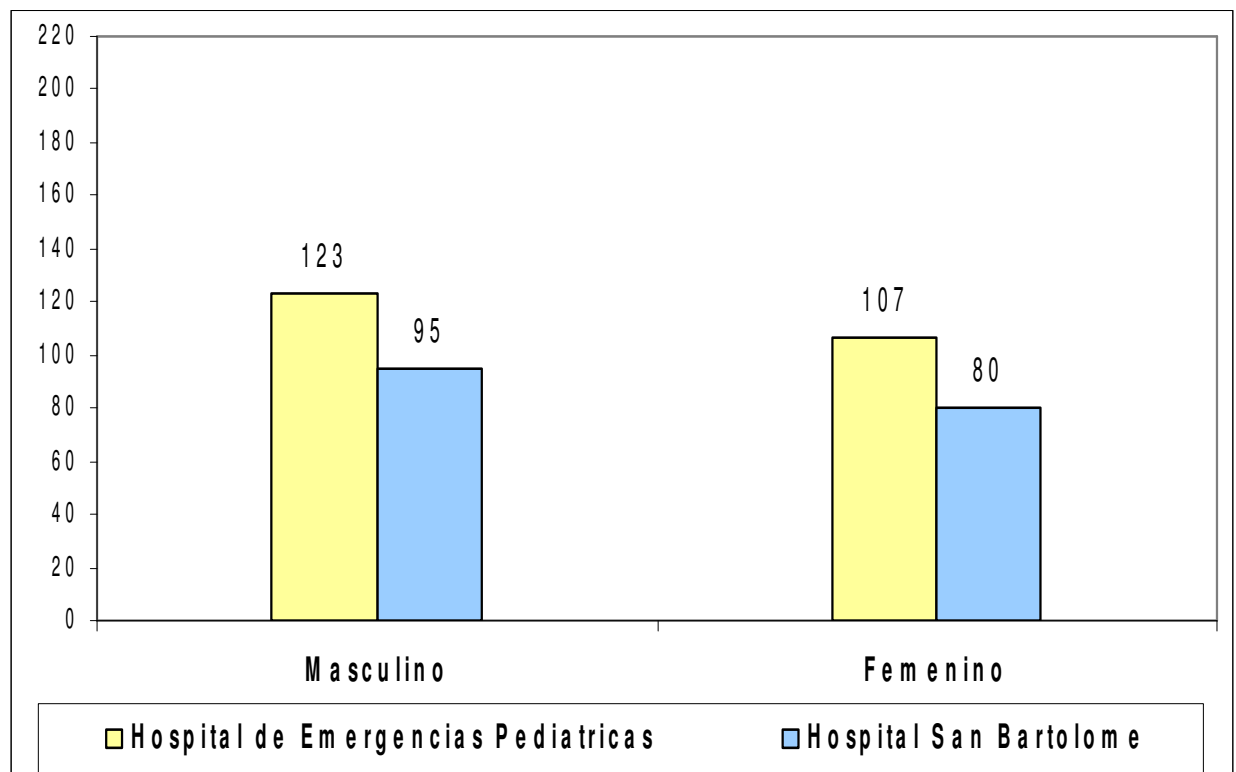


La tabla N° 5 muestra la distribución del sexo de los casos de diarrea aguda por hospital. El porcentaje casos para el sexo masculino, de ambos hospitales, es 53.83% y para el sexo femenino es de 46.17%.

Tabla N° 5
Distribución de Pacientes según Sexo por Hospital

Sexo	Centro Asistencial		Total	%
	Hospital de Emergencias Pediátricas	Hospital San Bartolomé		
Masculino	123	95	218	53.83
Femenino	107	80	187	46.17
Total	230	175	405	100.00

Gráfico N° 6
Distribución de Pacientes según Sexo por Hospital



ANALISIS DETALLADO DEL HOSPITAL MATERNO-INFANTIL SAN BARTOLOMÉ

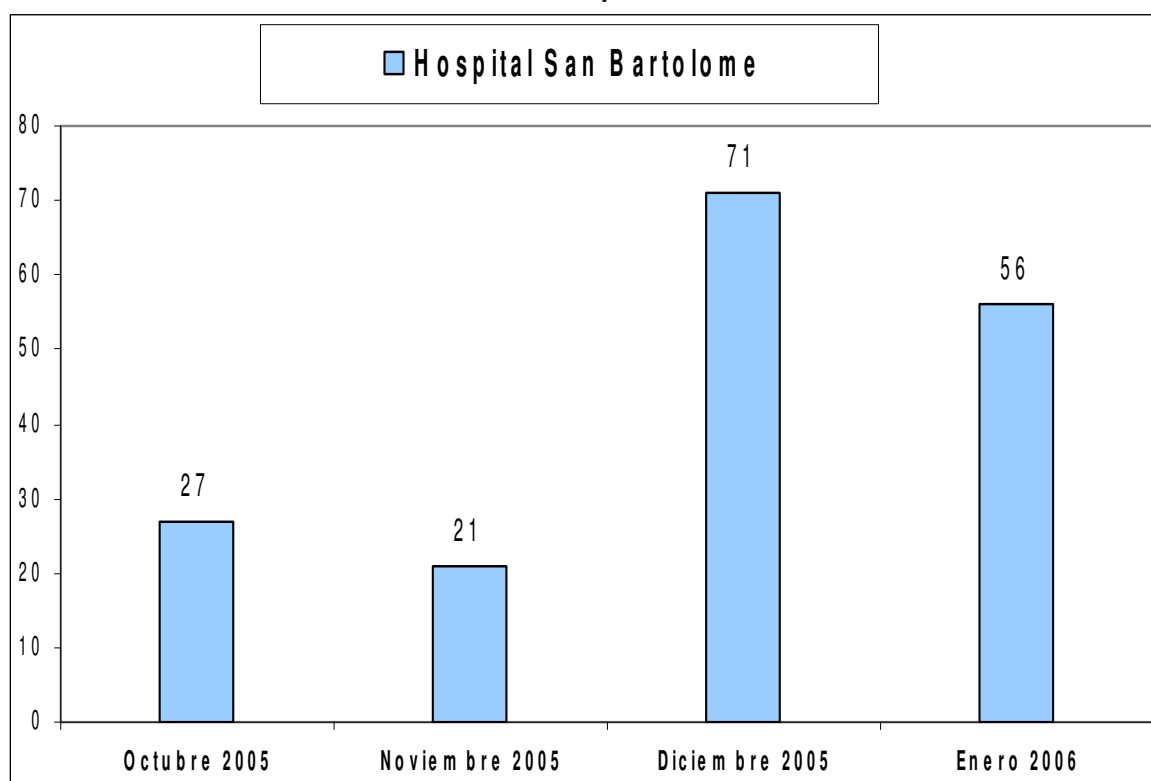
Durante los meses de octubre del 2005 a enero del 2006 se captaron 175 casos de diarrea aguda en niños menores de cinco años en el Hospital San Bartolomé. La distribución de pacientes por edades se detalla en la tabla N° 6, notándose que los eventos de diarrea aguda disminuyen conforme aumenta la edad.

Tabla N° 6
Hospital Materno-Infantil San Bartolomé
Distribución de Pacientes según edades por meses de evento

Edades	Meses				Total
	Octubre 2005	Noviembre 2005	Diciembre 2005	Enero 2006	
Menos de 1 Año	15	7	32	19	73
1 Año	10	7	24	21	62
2 Años	2	0	8	6	16
3 Años	0	4	5	2	11
4 Años	0	2	0	6	8
5 Años	0	1	2	2	5
Total	27	21	71	56	175

En el gráfico N° 7 se observa claramente que la mayor frecuencia de casos de diarrea aguda se presentó en el mes de diciembre 2005 con 71 casos, seguido del mes de enero 2006 con 56 casos, luego el mes de octubre 2005 con 27 casos y por último Noviembre 2005 con 21 casos.

Gráfico N° 7
Distribución de Pacientes por meses de evento



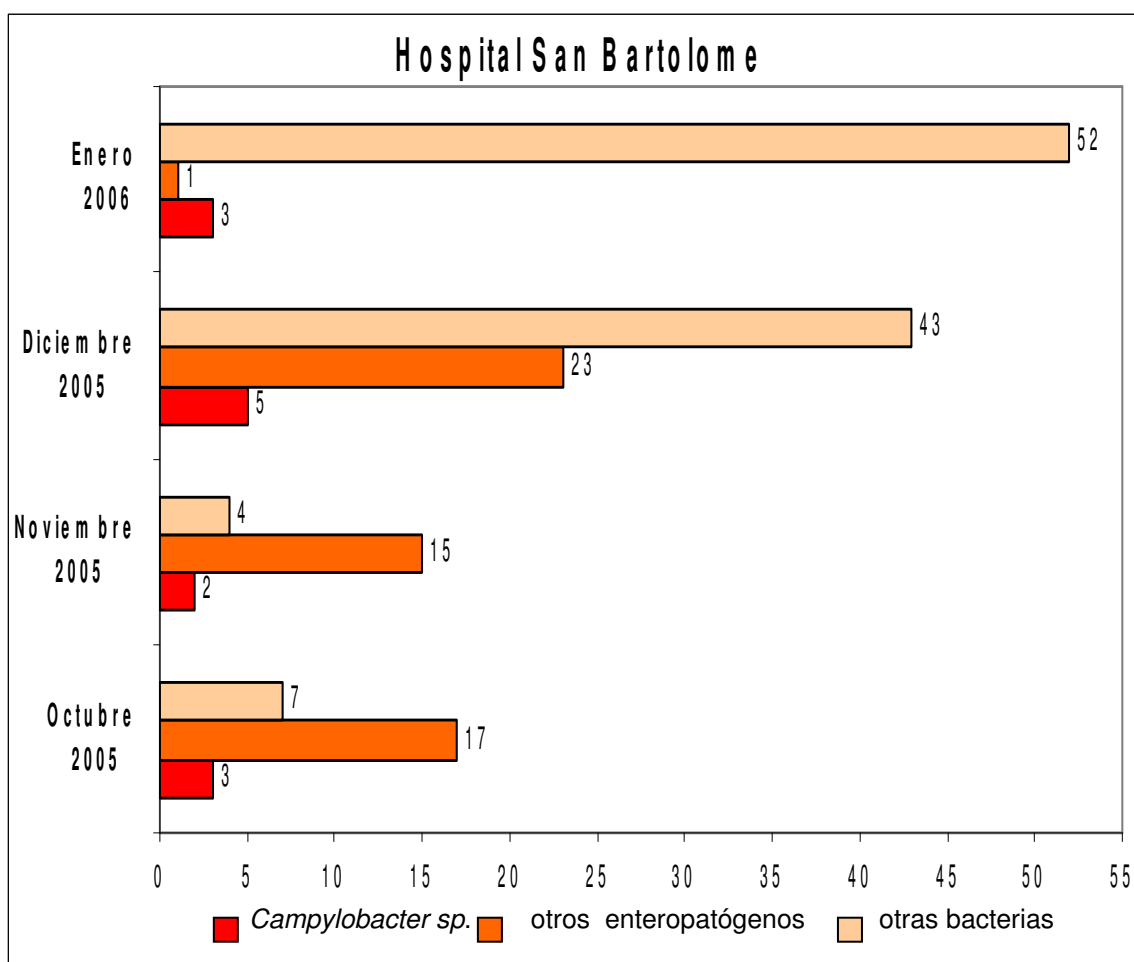
En el periodo de estudio se encontraron 13 casos positivos para *Campylobacter sp* como causa de diarrea aguda, en la tabla N° 7 se detalla el número de aislamientos de *Campylobacter sp* por meses de evento.

Tabla N° 7
Hospital Materno-Infantil San Bartolomé
Distribución de Pacientes según Diagnostico por meses de evento

Diagnostico	Meses				Total
	Octubre 2005	Noviembre 2005	Diciembre 2005	Enero 2006	
<i>Campylobacter sp.</i>	3	2	5	3	13
Otros enteropatógenos	17	15	23	1	56
Otras bacterias	7	4	43	52	106
Total	27	21	71	56	175

En el grafico N° 8 se observa que el mayor número de aislamientos de *Campylobacter sp* ocurrió en el mes de diciembre 2005, luego en los meses de Octubre 2005 y enero 2006 con tres casos y por último en el mes de Noviembre 2005 con 2 casos.

Gráfico N° 8



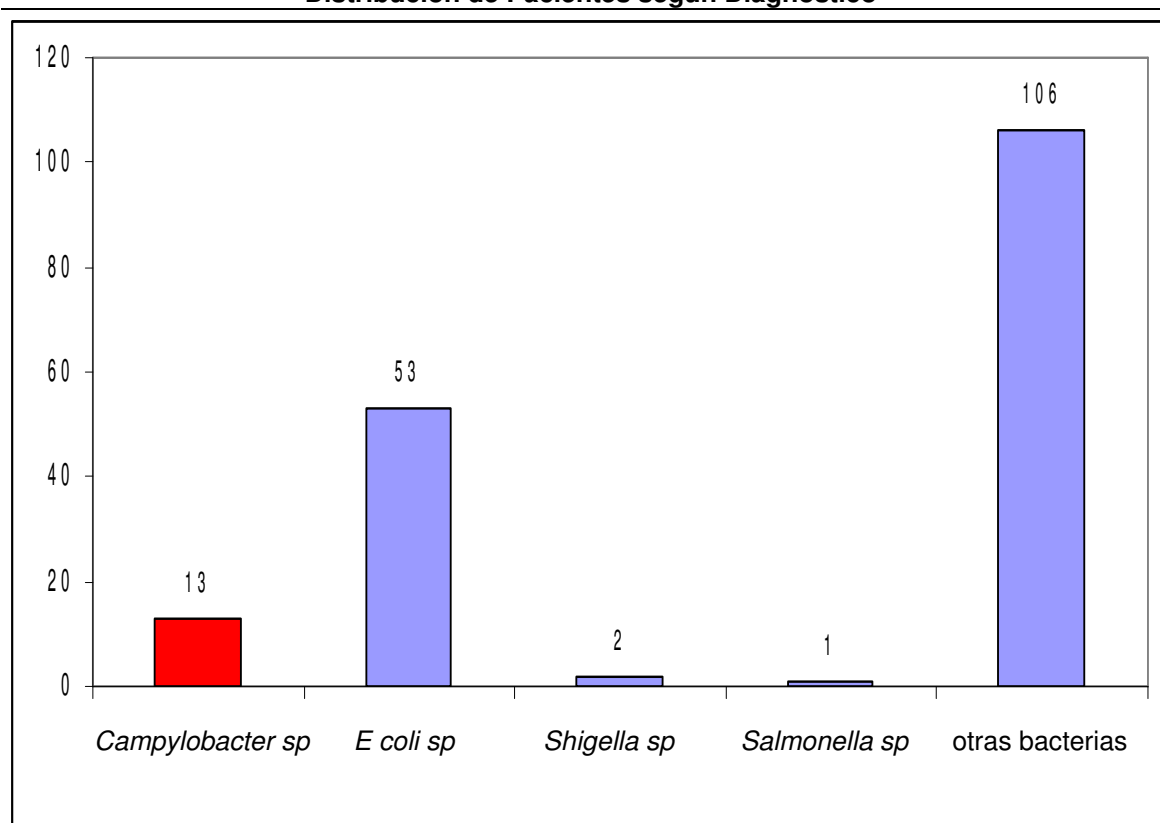
En la tabla N° 8 se observa que en el Hospital San Bartolomé la mayor incidencia, como causa de diarrea, corresponde a *Escherichia coli sp.* con 53 casos. Otros causantes de diarrea, diferentes a los enteropatógenos investigados en el presente estudio, se encontraron 106 casos.

Tabla N° 8
Hospital Materno-Infantil San Bartolomé
Distribución de Pacientes según Diagnostico por meses de evento

Diagnostico	Meses				Total
	Octubre 2005	Noviembre 2005	Diciembre 2005	Enero 2006	
<i>Campylobacter sp</i>	3	2	5	3	13
<i>E coli sp.</i>	17	15	21	0	53
<i>Shigella sp</i>	0	0	1	1	2
<i>Salmonella sp</i>	0	0	1	0	1
Otras bacterias	7	4	43	52	106
Total	27	21	71	56	175

Campylobacter sp se encontró en segundo lugar como causante de diarrea aguda, en el Hospital San Bartolomé, en menores de cinco años con 5 casos, superando a *Salmonella sp* con un solo caso y a *Shigella sp* con 2 casos, tal como se muestra en el gráfico N° 9.

Grafico N° 9
Hospital Materno-Infantil San Bartolomé
Distribución de Pacientes según Diagnostico



ANALISIS DETALLADO DEL HOSPITAL DE EMERGENCIAS PEDIÁTRICAS

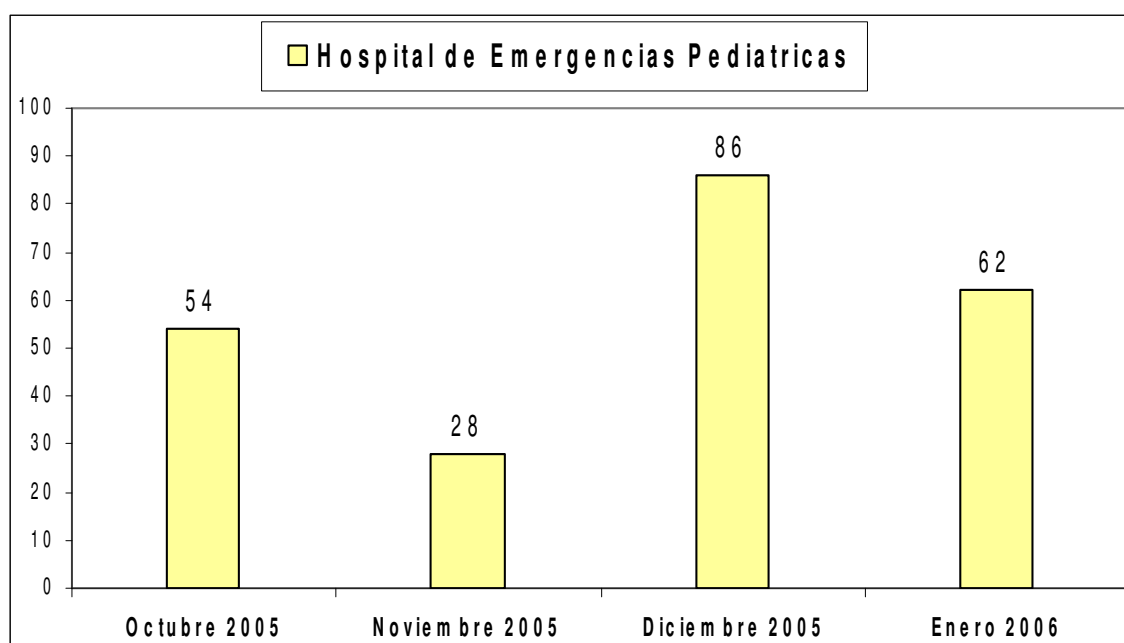
Durante los meses de octubre del 2005 a enero del 2006 se captaron para el estudio 230 casos de diarrea aguda en pacientes ambulatorios menores de cinco años atendidos en el Hospital de Emergencias Pediátricas. La distribución de pacientes por edades se detalla en la tabla N° 6, notándose que los eventos de diarrea aguda disminuyen conforme aumenta la edad.

Tabla N° 9
Hospital de Emergencias Pediátricas
Distribución de Pacientes según edades por meses de evento

Edades	Meses				Total
	Octubre 2005	Noviembre 2005	Diciembre 2005	Enero 2006	
Menos de 1 Año	24	11	39	29	103
1 Año	15	3	25	16	59
2 Años	6	6	12	13	37
3 Años	4	8	9	2	23
4 Años	4	0	1	2	7
5 Años	1	0	0	0	1
Total	54	28	86	62	230

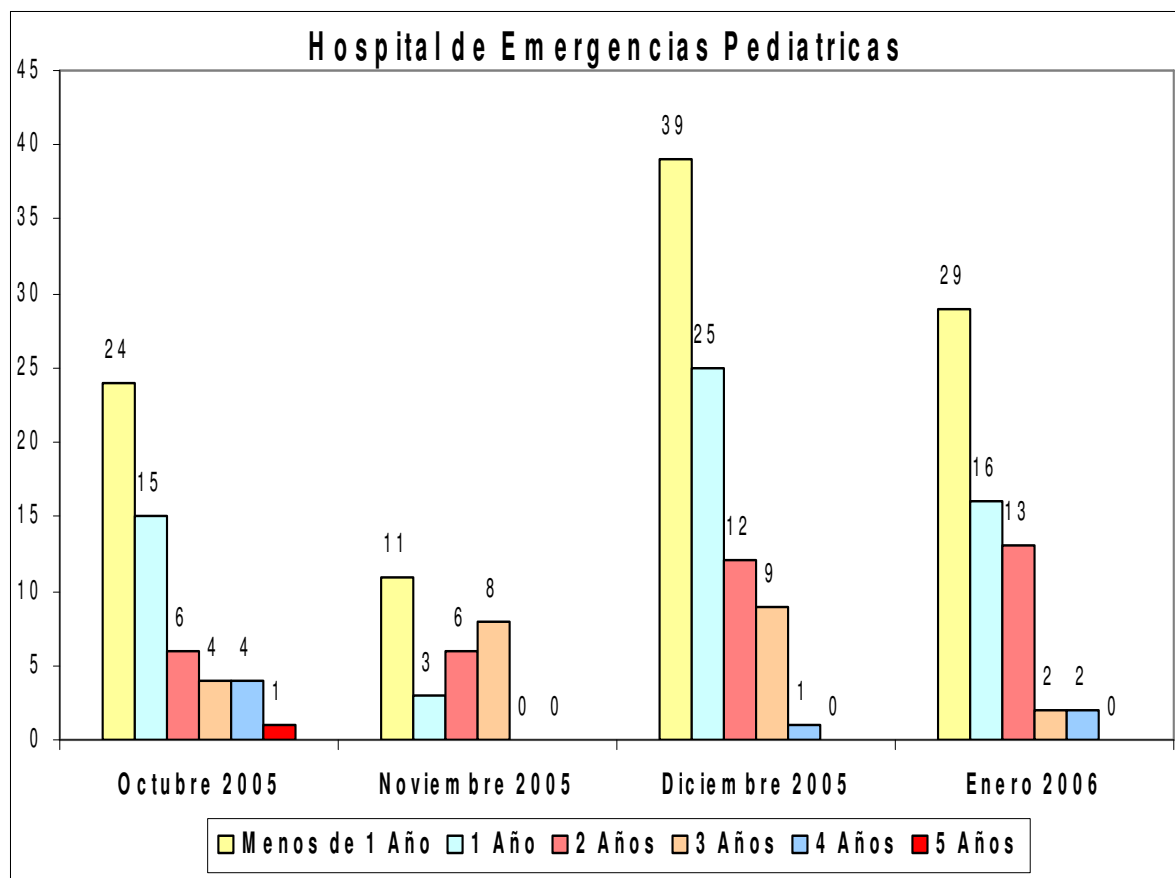
En el gráfico N° 10 se observa claramente que la mayor frecuencia de casos de diarrea aguda se presento en el mes de diciembre 2005 con 86 casos, seguido del mes de enero 2006 con 62 casos, luego el mes de octubre 2005 con 54 casos y por último Noviembre 2005 con 28 casos.

Gráfico N° 10
Distribución de Pacientes según edades por meses de evento



En el gráfico N° 11 se observa que la mayor frecuencia de casos de diarrea aguda se presentó en el mes de diciembre 2005, se observa también en el periodo de estudio el grupo etareo con mayor frecuencia son los menores de un año con 39 de 86 casos para el mes de diciembre, seguido del mes de enero 2006 con 29 de 62 casos, luego el mes de octubre 2005 con 24 de 54 casos y por último Noviembre 2005 con 11 de 28 casos.

Grafico N°11
Distribución de Pacientes según edades por meses de evento



En un segundo lugar encontramos al grupo etareo 1 año con 25 de 86 casos para diciembre, 16 de 62 casos par el mes de enero, 15 de 54 casos para el mes de octubre y por ultimo 11 de 28 casos en el mes de noviembre. En un tercer lugar encontramos al grupo etareo 2 años con 13 de 62 casos para el mes de enero, 12 de 86 casos par el mes de diciembre, 6 de 54 casos para el mes de octubre y 6 de 28 casos en el mes de noviembre. En un cuarto lugar encontramos al grupo etareo 3 años con 9 de 86 casos para el mes de diciembre, 8 de 28 casos par el mes de noviembre, 4 de 54 casos para el mes de octubre y 2 de 62 casos en el mes de enero. En el grupo etareo 4 años se encontraron 4 de 54 casos en el mes de octubre, 2 de 62 casos en enero, y 1 de 86 casos en diciembre. Para el grupo etareo 5 años solo se encontró 1 de 54 casos en el mes de octubre.

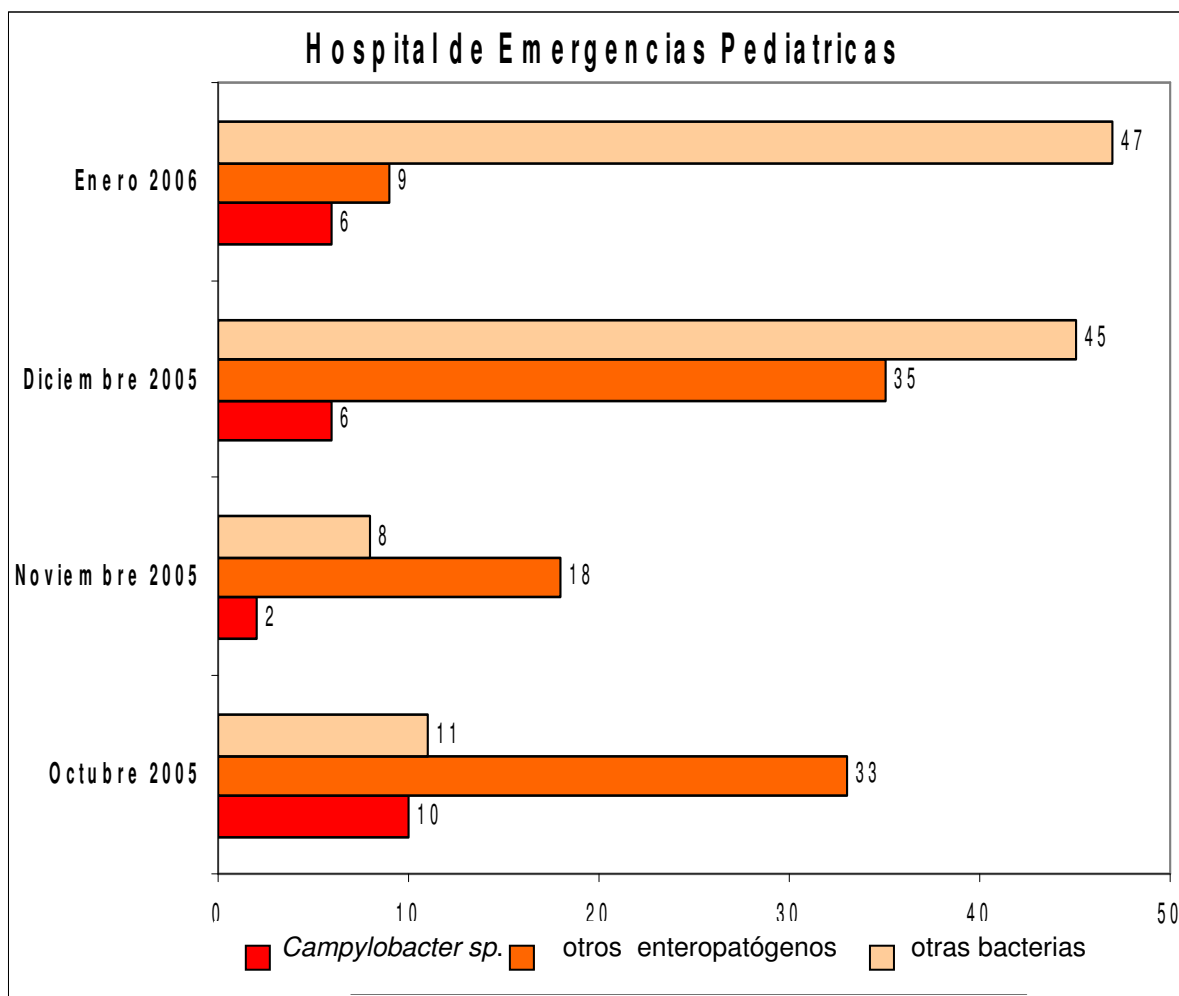
En el periodo de estudio (octubre 2005-enero 2006) se encontraron 24 casos positivos a *Campylobacter sp* como agente causal de diarrea aguda, en la tabla N° 10 se detalla el número de aislamientos de *Campylobacter sp* por meses de evento.

Tabla N° 10
Hospital de Emergencias Pediátricas
Distribución de Pacientes según agente etiológico por meses de evento

Diagnostico	Meses				Total
	Octubre 2005	Noviembre 2005	Diciembre 2005	Enero 2006	
<i>Campylobacter sp</i>	10	2	6	6	24
Otros enteropatógenos	33	18	35	9	95
Otras bacterias	11	8	45	47	111
Total	54	28	86	62	230

En el grafico N° 12 se observa que el mayor número de aislamientos de *Campylobacter sp* ocurrió en el mes de octubre 2005 hallando 10 casos, luego en los meses de diciembre 2005 y enero 2006 con 6 casos y por último en el mes de Noviembre 2005 con 2 casos.

Gráfico N° 12
Distribución de Pacientes según Diagnostico por meses de evento



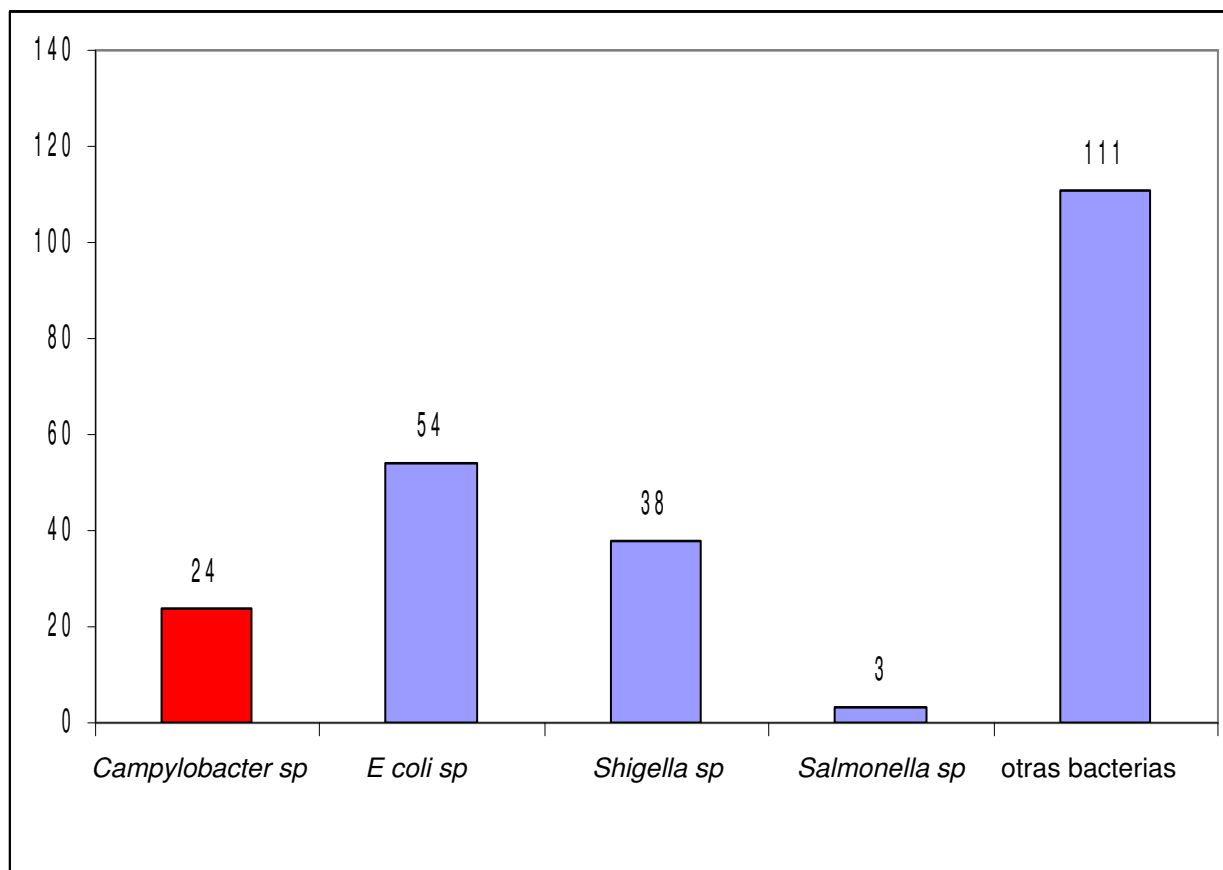
En la tabla N° 11 se observa que en el Hospital de Emergencias Pediátricas la mayor incidencia, como causa de diarrea, corresponde a *Escherichia coli sp.* con 54 casos. Otros causantes de diarrea, diferentes a los enteropatógenos investigados en el presente estudio, se encontraron 111 casos.

Tabla N° 11
Hospital de Emergencias Pediátricas
Distribución de Pacientes según Diagnostico por meses de evento

Diagnostico	Meses				Total
	Octubre 2005	Noviembre 2005	Diciembre 2005	Enero 2006	
<i>Campylobacter sp</i>	10	2	6	6	24
<i>E coli sp</i>	23	10	21	0	54
<i>Shigella sp</i>	10	8	12	8	38
<i>Salmonella sp</i>	0	0	2	1	3
Otras bacterias	11	8	45	47	111
Total	54	28	86	62	230

Shigella sp. se encuentra en un segundo lugar con 38 casos, *Campylobacter sp* se encontró en tercer lugar como causante de diarrea aguda, en el Hospital de Emergencias Pediátricas, en pacientes ambulatorios menores de cinco años con 5 casos, superando a *Salmonella sp* con 3 casos, tal como se muestra en el gráfico N° 13.

Gráfico N° 13
Hospital de Emergencias Pediátricas
Distribución de Pacientes según Diagnostico



IV. DISCUSIONES

El presente estudio encontró una incidencia de 9.1% de 405 muestras para *Campylobacter sp* ubicándose como tercer agente etiológico de diarrea aguda en niños menores de cinco años; provenientes de diferentes distritos; que acudieron a los Hospitales de Emergencias Pediátricas y Hospital Materno Infantil San Bartolomé, ubicados en Lima. Se encontró una incidencia de 26.4% para *Escherichia coli* diarreogénica ocupando el primer lugar como agente etiológico y en segundo lugar se encontró a *Shigella sp* con una incidencia de 9.9% (Tabla N° 4).

Se determino *Escherichia coli* con las pruebas bioquímicas clásicas, confirmándose *Escherichia coli* diarreogénica por pruebas serológicas frente a antisueros polivalentes, confirmándose con la misma metodología *Shigella sp* y *Salmonella sp*.

Estos resultados son comparables al estudio realizado en la región de Ribeirao Preto-SP Brasil donde de un total de 1836 muestras; entre pacientes hospitalizados y ambulatorios; recolectadas entre enero de 1994 y diciembre de 1997 obtuvieron a *Escherichia coli* enteropatógena como el agente etiológico más importante de diarrea, el segundo agente etiológico más frecuente fue *Shigella sp* y *Campylobacter sp* ocupó el tercer lugar. Cabe mencionar que en este estudio la mayor incidencia de *Campylobacter sp* ocurrió en niños entre cero y cuatro años (24), en comparación al presente estudio donde el mayor numero de casos positivos se encontró en el grupo etáreo menores de un año con 20 casos positivos para *Campylobacter sp*, siendo este grupo etáreo el que presenta mayor número de muestras recolectadas (176 casos). (ver tabla N° 3).

El Instituto Nacional del Niño realizó un trabajo transversal analítico con niños menores de 10 años donde encontraron a *Campylobacter jejuni* como uno de los principales agentes etiológicos de diarrea, además dicho estudio mostró que los lactantes de un año de edad, o más jóvenes, eran los más susceptibles (33), resultados también obtenidos en nuestro estudio, donde se observó que del total de casos, el grupo etáreo menores de un año representa el 43.46% de 405 pacientes ambulatorios que acudieron por síntomas de diarrea aguda, de este grupo etáreo encontramos 20 casos positivos a *Campylobacter sp*.

Entre abril y octubre 2001, en cuatro Centros de Salud del distrito de la Victoria, se realizó un trabajo transversal analítico, donde incluyeron a niños menores de dos años con diarrea aguda obteniendo un total de 248 casos de los cuales 33 (13.33%) coprocultivos fueron positivos a *Campylobacter sp.*, 12 (4.8%) a *Shigella sp.* y 3 (1.2%) a *Salmonella sp.*(34), a diferencia del presente trabajo donde nuestra población abarcó niños menores de 5 años con diarrea aguda obteniendo 37 (9.1%) coprocultivos positivos a *Campylobacter sp.* de los cuales 20 (4.94%) corresponden al grupo etáreo menores de un año y 13 (3.21%) corresponden a niños de un año de edad. Si en el presente trabajo tomamos a niños menores de 2 años tendríamos 297 casos de diarrea aguda donde tenemos 33 (11.11%) coprocultivos positivos a *Campylobacter sp.*.

En la Facultad de Medicina de la Universidad de Zulia, Venezuela, en el año 2002, procesaron 366 muestras de heces provenientes de niños menores de cinco años, atendidos en los servicios de emergencia de 3 nosocomios municipales durante cuatro meses donde *Campylobacter jejuni* ocupó el cuarto lugar de frecuencia; se aprecia que la más alta incidencia de enteropatógenos se da en el grupo etario de 0-24 meses (27); que coincide con el presente trabajo donde *Campylobacter sp.* ocupó el tercer lugar como agente causal y la mas alta incidencia de casos positivos a *Campylobacter sp.* se encontró en el grupo etáreo menores de 1 año.

Cabe resaltar que la búsqueda, aislamiento e identificación de este agente no forma parte de los análisis de rutina usados en los laboratorios de los nosocomios de donde procedieron las muestras, debido a las exigencias físicas (temperatura, atmósfera de microaerofilia y medios enriquecidos) que este microorganismo requiere para su crecimiento.

Se usó el esquema de biotipificación de Lior para identificar las especies de *Campylobacter*, aislando *Campylobacter jejuni* 25 casos, *Campylobacter coli* 9 casos, y *Campylobacter lari* 3 casos.

V. CONCLUSIONES

1. La incidencia de *Campylobacter sp.* en niños menores de cinco años con diarrea aguda procedentes de dos hospitales de la ciudad de Lima es de 9.10% (37 casos), ocupando el tercer lugar como agente etiológico.
2. Se encontraron en 25 casos a *Campylobacter jejuni* como agente causal, en 9 casos a *Campylobacter coli* y en 3 casos a *Campylobacter lari*.
3. *Escherichia coli* diarreogénica presentó la mas alta incidencia en el estudio como agente causante de diarrea aguda en niños menores de cinco años con un 26.4%, *Shigella sp.* Con un 9.90%.

VI. RECOMENDACIONES

1. Debido a la presencia de *Campylobacter sp.* en los diferentes estudio mencionados incluyendo el presente, se debería incluir la búsqueda y aislamiento de *Campylobacter sp.* como parte de la rutina diaria seguida en los laboratorios clínicos de los nosocomios del Ministerio de Salud a las muestras de heces diarreicas que provienen de la población mas sensible.
2. Debido a la relación del aspecto socioeconómico se debería hacer un seguimiento a los pacientes con diagnostico de infección por *Campylobacter* para determinar la vía de infección y controlar la zoonosis en nuestro país.

VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. <http://www.minsa.gob.pe/estadisticas/estadisticas/Morbilidad/CEMacros.htm>
2. Tauxe, RV, N. Hargrett-Bean, CM Patton and IK Wachsmuth. 1988. *Campylobacter* isolates in the United States, 1982-1986. Morbid. Mortal. Weekly Rep. 37:1-13.
3. <http://www.bvsops.org.uy/pdf/campylobacter.pdf>
4. World Health Organization. A manual for the treatment of acute diarrhea for use by physicians and other senior health workers. Diseases, World Health Organization, WHO/CDD/SER/80.2 Rev, 2.1990 cc
5. Lior H., Woodward D.L., Edgar J.A., Laroche L.J. and Gill P.. Serotyping *Campylobacter jejuni* by slide agglutination based on heat-labile antigenic factors. J. Clin Microbiol 15(5): 761-768, 1982.
6. Penner J.L. and Hennessy J.N. Passive hemagglutination technique for serotyping *Campylobacter jejuni* fetus subsp *jejuni* on the basis of soluble heat-stable antigens. J Clin Microbiol 12(6): 732-737, 1980.
7. Nacional Center for Biotechnology Information. Taxonomy browser: *Campylobacter* group. (base de datos en línea) <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?CMD=&DB=taxonomy>
8. Hernandez, F., Rivera, P., Herrera, M.L. Rodriguez R.(1983) Aislamiento y diagnostico de *Campylobacter fetus* spp. *Jejuni*. Revista Medica Hosp.. Nal. Niños 18,1-19.
9. Butzler, JP 1984. *Campylobacter* Infection in Man and Animals. CRC Press, Boca Raton, FL.
10. Lior H., Woodward D. L., Edgar J. A., Laroche J., Gill P. Serotyping of *Campylobacter jejuni* by slide agglutination based on heat-labile antigenic factors, Journal Clinical Microbiology 15 (1982) 761-768.
11. Penner J. L, Hennesy J. N, Passive hemagglutination technique for serotyping *Campylobacter fetus subsp. jejuni* on the basis of soluble heat stable antigens. Journal Clinical Microbiology 12 (1980) 732-737.
12. Curved gram negative bacilli and oxidase-positive fermenters. In: Koneman, Allen, Janda, eds. Diagnostic Microbiology 5th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 1997.
13. FDA-SFSAN."Campylobacter". En: Bacteriological Analytical Manual. 9º Ed. Capítulo 7. 2001.
14. Pam Scates, Lynn Moran, and Robert H. Madden. Effect of Incubation Temperature on Isolation of *Campyloabcer jejuni* genotypes from foodstuffs

- enriched in Preston Broth. Applied and environmental microbiology, Aug. 2003,p. 4658-4661.
15. Franco DA. Williams CE: *Campylobacter jejuni*. In : Hui YH, Pierson MD, Gorham JR, eds: Foodborne disease handbook. 2nd. ed. New York: Marcel Dekker, 1999.
 16. Pepersack F, Prigogyne T, Butzler JP, Yourassowsky E. *Campylobacter jejuni* posttransfusional septicemia (letter). Lancet; 2 (8148):911, 1979.
 17. DANMAP. DANMAP 2000 – Consumption of antimicrobial agents and occurrence of antimicrobial resistance in bacteria from food animals, foods and humans in Denmark.Dinamarca, 2001.
 18. Blaser, MJ, GP Perez, PF Smith, CM Patton, FC Tenover, AJ Lastovica and WL Wang. 1986. Extra intestinal *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* infections: host factors and strain characteristics. J. Infect. Dis. 153:552-559.
 19. Trudy M. Wassenaar, Martin J. Blaser. Pathophysiology of *Campylobacter jejuni* infections of humans. Microbes and Infection 1(1999) 1023-1033.
 20. Irving Nachamkin Choric effects of *Camoylobacter* infection Departament of pathology and Laboratory Medicine, University of Pennsylvania School of Medicine, Philadelphia Microbes and Infection 4(2002) 399-403.
 21. Urrestarazu MI, Darricarrere RT, Pérez M, Daoud G, Serrano N, Cavaza ME y Pérez Schael I.. Frecuencia de *Campylobacter jejuni* y otros agentes patógenos en un grupo de lactantes venezolanos con diarrea aguda. Bol of Sanit Panam 104(3): 225-233, 1988.
 22. Dra Valeria Prado, Dra Teresa Siri A., Dr Luis Fidel Avendaño, Dra Stephanie Braun J., Dr Iván Jorquera. Prevalencia de agentes enteropatógenos en síndrome diarreico agudo en niños hospitalizados y ambulatorios. Revista Chilena de Pedriatría 58(4); 285-290. 1987.
 23. G. Hascelik, Y. Akyon, S. Diker, E. Berkman. *Campylobacter* enteritis among Turkish children. Journal of Islamic Academy of Sciences 2:3, 201-203, 1989.
 24. Medeiros MI, Neme SN, da Silva P, Capuano DM, Errera MC, Fernandes SA, do Valle GR & de Avila FA. Etiology of diarrhea among children in Ribeirao Preto-SP, Brazil. Rev. Inst. Med. Trop. S. Paulo; 43(1):21-24 January-february, 2001.
 25. Khan-Mohammed Z, Adesiyun AA, Swanston WH, ChadeeDD. Frequency and characteristics of selected enteropathogens in fecal and rectal specimens from childhood diarrhea in Trinidad, 1998-2000. Rev Panam Salud Pública. 2005 Mar;17(3):170-7.

26. C. López, A. Agostini, G. Giacoboni, F. Cornero, D. Tellechea & J.J. Trinidad. *Campylobacteriosis* en una comunidad de bajos recursos de Buenos Aires, Argentina. Rev sci tech Off int Epiz., 2003, 22(3): 1013-1020.
27. Rincon G, Ginestre M, Harris B, Romero S, y Martínez A. Frecuencia de bacterias enteropatógenas en niños menores de cinco años. Kasmera 30(1): 33-41, 2002.
28. Ali AM, Qureshi AH, Rafi S, Roshan E, Khan I, Malik AM, Shahid SA. Frequency de *Campylobacter jejuni* in diarrhoea/dysentery in children in Rawalpindi and Islamabad. J Pak Med Assoc. 2003 Nov;53(11):517-20.
29. S. Workman, S. Sorbers, G. Mathison and M. Lavoie. Human *Campylobacter*-associated enteritis on the Caribbean Island of Barbados. The American Society of Tropical Medicine and Hygiene, 74(4), 2006, pp. 623-627.
30. Black RE, López de Romaña G, Brown KH, Bravo N, Bazalar OG, Kanashiro HC. Incidence and etiology of infantile diarrhea and major routes of transmission in Huascar, Perú. Am. J. Epidemiol. 1989 Apr; 129(4): 785-799.
31. O. Grados, N. Bravo, E. Black and J. P. Butzler. Paediatric *campylobacter* diarrhoea from household exposure to live chickens in Lima, Perú. Bulletin of the World Health Organization, 66(3), 369-374. 1988.
32. Marquis GS, Ventura G, Gilman RH, Porras E, Miranda E, Carvajal L and Pentafiel M. Fecal contamination of shanty town toddlers in households with non-corrallated poultry, Lima, Perú. Am.J. Public. Health 1990 Feb; 80(2): 146-149.
33. Murga H, Huicho L, Guevara G. Acute diarrhoea and *Campylobacter* in peruvian children: a clinical and epidemiologic approach. J. Tropical Pediatr. 1993 Dec; 39(6): 338-341.
34. Perales M, Camiña M, Quiñones C. Infección por *Campylobacter* y *Shigella* como causa de diarrea aguda acuosa en niños menores de dos años en el distrito de la Victoria, Lima – Perú. Rev Perú Med Exp Salud Pública 2002; 19 (4)
35. Fernández H, Zamudio M. Diagnóstico y pruebas de sensibilidad de *Campylobacter* y *Helicobacter*: Primer curso Internacional Teórico-Práctico INS, OPS/OMS; 2003 Oct. 13-17; Lima.
36. Francisco Hernández Chavarría. Cultivo de Bacterias microaerófilas: *Campylobacter* . Rev. Col. de MQC de Costa Rica (2002), vol. 8, número 5. pag. 116- 121.

37. Darío A. Salcedo, Víctor Crispín Pérez. Medios de Cultivo, Interpretación Bioquímica. UNMSM. Facultad de Farmacia y Bioquímica. Departamento Academico de Microbiología y Parasitología. Lima – Perú. 1987.

VIII. ANEXOS

ANEXO 1

Suplemento de aerotolerancia FBP: (34)

- metabisulfito de sodio 0.5g/litro
- piruvato de sodio 0.5g/litro
- sulfato ferroso 0.5g/litro

Adicionar cada componente al medio base *Campylobacter* antes de autoclavar.

ANEXO 2

Coloración Gram “Interrumpido”: (34)

- Hacer un frotis con una asada de la colonia sospechosa.
- Colorear con la solución de cristal violeta del Gram, dejar secar por dos a tres minutos
- Escurrir y lavar con agua
- Cubrir con la solución de lugol del Gram por 2 a 3 minutos.

ANEXO 3

Reactivos para la prueba de Hidrólisis del hipurato: (34)

- 1% de hipurato de sodio en agua (0.1g en 10ml de agua destilada estéril). Repartir 0.4 ml en tubos y guardarlos a -20°C hasta su uso. Antes de usar verificar que el hipurato de sodio se encuentre a temperatura ambiente.
- 3.5% de ninhidrina en butanol acetona (1:1), preparado en fresco. Guardar por una semana en refrigeración. En un tubo con tapa rosca disolver la ninhidrina en acetona y luego añadir el butanol. Mezclar. La solución es de color amarillo. Guardar envuelto con papel aluminio en refrigeración.

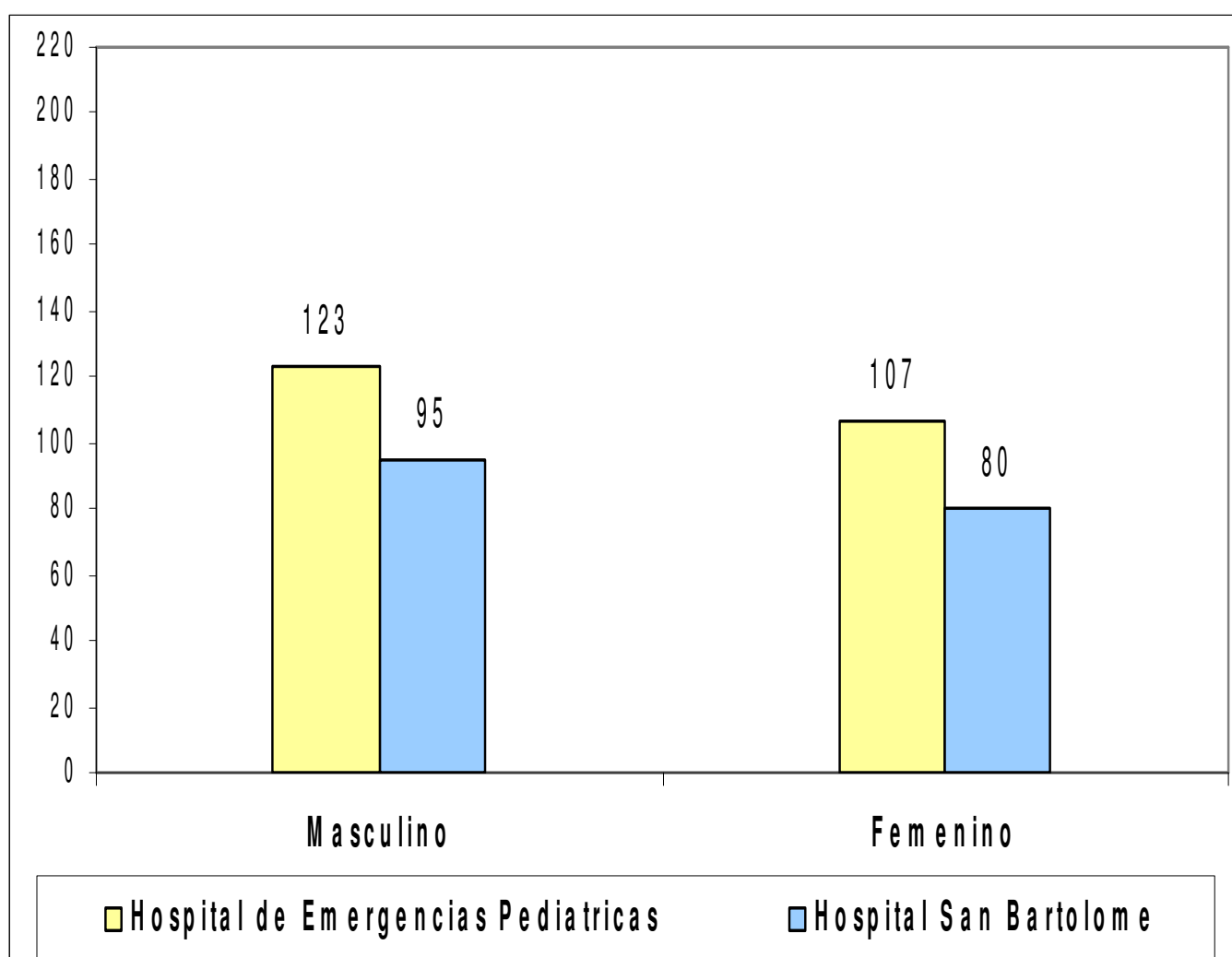
ANEXO 4

Tabla N° 12
Distribución de Pacientes según Sexo por Hospital

Sexo	Centro Asistencial		Total	%
	Hospital de Emergencias Pediátricas	Hospital Materno-Infantil San Bartolomé		
Masculino	123	95	218	53.83
Femenino	107	80	187	46.17
Total	230	175	405	100.00

Se observa en el estudio que el mayor porcentaje de la población 53.83% (218 casos) son del sexo masculino en comparación con el sexo femenino en un 46.17% (187 casos) siendo las proporciones siendo 56.79% los pacientes correspondientes al Hospital de emergencias Pediátricas y 43.21% los pacientes correspondientes al Hospital Materno Infantil San Bartolomé, que se puede apreciar en el gráfico 14.

Gráfico N° 14
Distribución de Pacientes según Sexo por Hospital



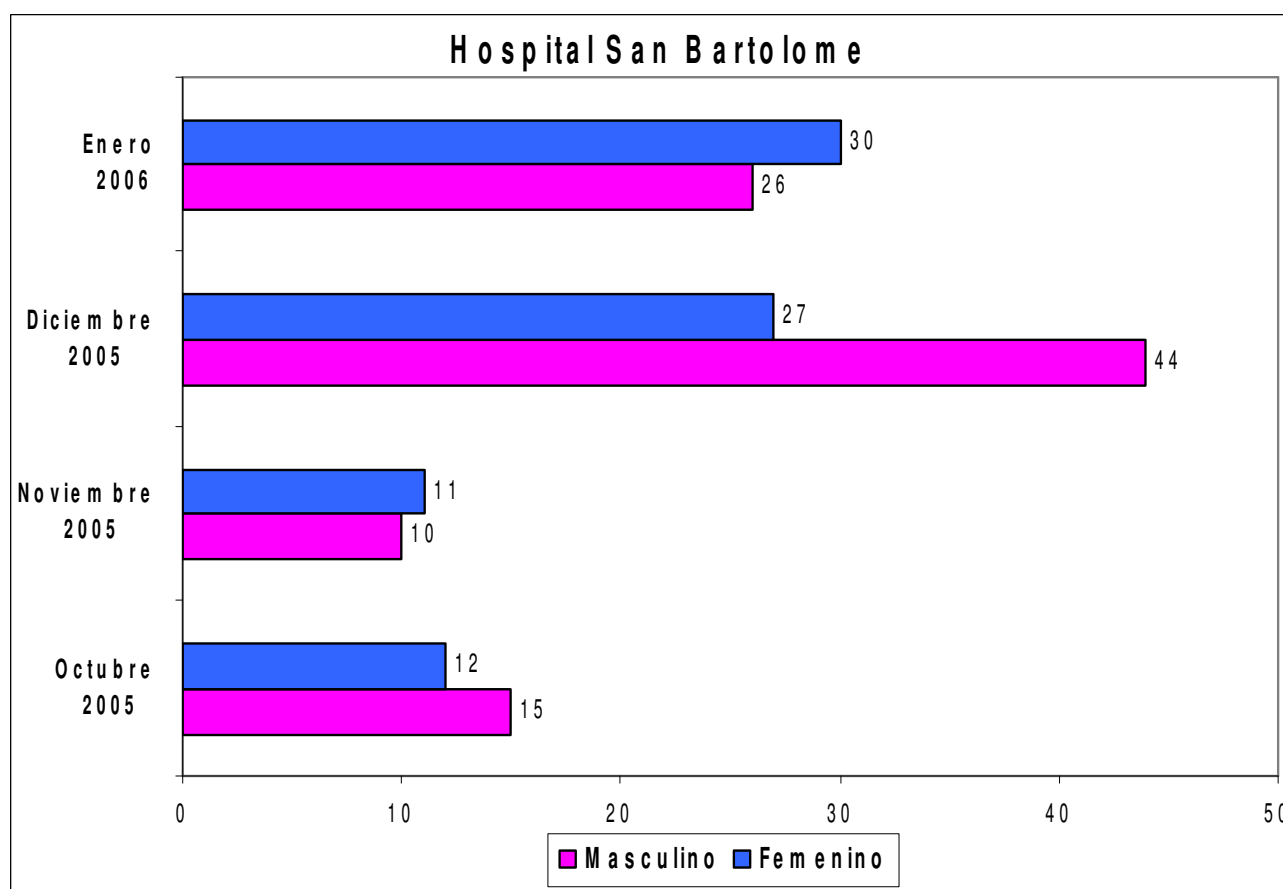
Apreciando los resultados parciales por cada hospital tenemos que en el Hospital Materno-Infantil San Bartolomé la mayor proporción de nuestros pacientes en el período de estudio fue del sexo masculino con 54% obteniendo mayor población en el mes de diciembre, comparado con pacientes del sexo femenino con 46 % del total obteniendo mayor población en el mes de enero 2006 (tabla 13 y gráfico 15)

Tabla N° 13
Hospital Materno-Infantil San Bartolomé
Distribución de Pacientes según Sexo por meses de evento

Sexo	Meses				Total	%
	Octubre 2005	Noviembre 2005	Diciembre 2005	Enero 2006		
Masculino	15	10	44	26	95	54
Femenino	12	11	27	30	80	46
Total	27	21	71	56	175	100

El menor número de casos para los pacientes de ambos se obtuvo en el mes de noviembre con 10 pacientes del sexo masculino y 11 pacientes del sexo femenino.

Gráfico N° 15
Distribución de Pacientes según Sexo por Hospital



Hospital de Emergencias Pediátricas la mayor proporción de nuestros pacientes en el período de estudio fue del sexo masculino con 53% obteniendo mayor población en el mes de diciembre, comparado con pacientes del sexo femenino con 47 % del total obteniendo mayor población en el mes de diciembre 2005 para ambos sexos.(tabla 14 y gráfico 16).

Tabla N° 14
Hospital de Emergencias Pediátricas
Distribución de Pacientes según Sexo por meses de evento

Sexo	Mes				Total	%
	Octubre 2005	Noviembre 2005	Diciembre 2005	Enero 2006		
Masculino	31	19	40	33	123	53
Femenino	23	9	46	29	107	47
Total	54	28	86	62	230	100

Gráfico N° 16
Distribución de Pacientes según Sexo por meses de evento

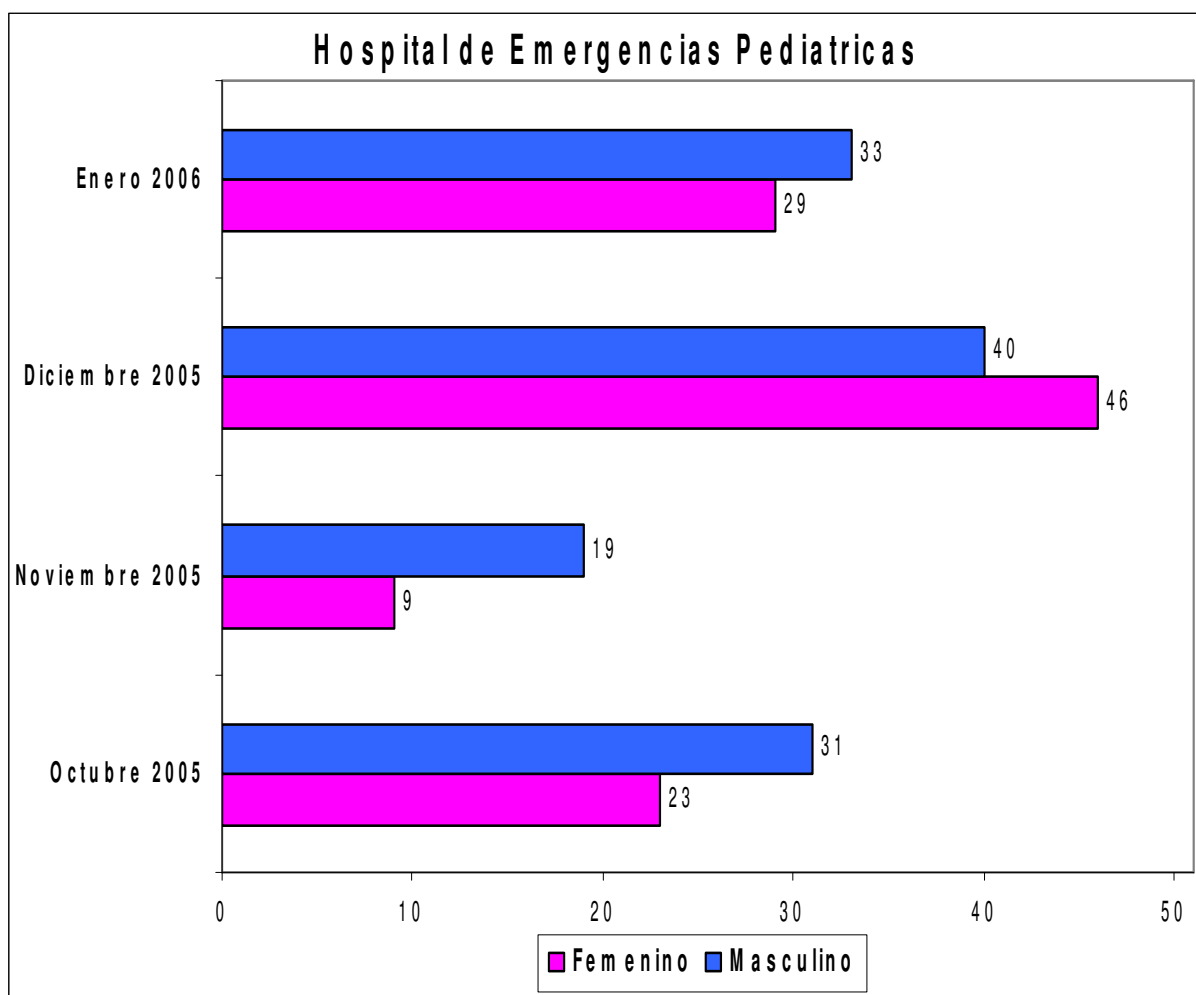


Tabla N°15
Distribución de Pacientes según Diagnostico por sexo y edad

Sexo	Masculino							Femenino						
Edades	Edades						Total	Edades						Total
Diagnostico	< 1 Año	1 Año	2 Años	3 Años	4 Años	5 Años		< 1 Año	1 Año	2 Años	3 Años	4 Años	5 Años	
<i>Campylobacter sp.</i>	12	6	2	0	0	0	20	8	7	1	0	1	0	17
<i>E coli sp.</i>	36	10	3	6	2	1	58	25	16	3	2	2	1	49
<i>Shigella sp.</i>	2	5	6	6	1	0	20	3	4	9	4	0	0	20
<i>Salmonella sp.</i>	1	0	0	0	0	0	1	1	2	0	0	0	0	3
Otras bacterias	53	35	16	9	4	2	119	35	36	13	7	5	2	98
Total	104	56	27	21	7	3	218	72	65	26	13	8	3	187

El agente etiológico encontrado en mayor porcentaje es *E. coli sp.* afectando al grupo etéreo niños menores de 1 año con 36 casos en comparación con el grupo etéreo niñas menores de 1 año con 25 casos, en segundo lugar afecta a los niños de 1 años con 10 casos mientras que en el sexo femenino afecta en segundo lugar a las niñas de 1 año, en tercer lugar afecta a los niños de 3 años con 6 casos mientras que en el sexo femenino afecta en tercer lugar a las niñas de 2 años, en cuarto lugar afecta a los niños de 2 años con 6 casos mientras que en el sexo femenino afecta en segundo lugar a las niñas de 3 y 4 años, en ambos casos solo se encontró 1 caso para el grupo etéreo 5 años.

El segundo agente etiológico a *Shigella sp.* afectando en primer lugar a las niñas de 2 años con 9 casos, seguido de los niños de 2 y 3 años con 6 casos, en segundo lugar afecta a los niños de 1 año con 5 casos, seguido de las niñas de 1 y 3 años con 4 casos en ambos grupos, en tercer lugar afecta a las niñas menores de 1 año con 3 casos, seguido de los niños menores de 1 año con 2 casos y los niños de 4 años con 1 caso.

El tercer agente etiológico es *Campylobacter sp.* afectando en primer lugar a las niños menores de 1 años con 12 casos, seguido de los niñas menores de 1 con 8 casos, en segundo lugar afecta a los niños de 1 año con 6 casos, seguido de las niñas de 1 con 7 casos , en tercer lugar afecta a las niños de 2 años con 2 casos, seguido de los niñas de 2 años con 1 caso y las niñas de 4 años con 1 caso.

Tabla N° 16
Hospital Emergencias Pediátricas
Distribución de Pacientes según Diagnostico por sexo y edad

Sexo	Masculino							Femenino						
Edades	Edades						Total	Edades						Total
Diagnostico	< 1 Año	1 Año	2 Años	3 Años	4 Años	5 Años		< 1 Año	1 Año	2 Años	3 Años	4 Años	5 Años	
<i>Campylobacter sp.</i>	9	3	2	0	0	0	14	5	4	0	0	1	0	10
<i>E coli sp.</i>	22	1	0	3	1	1	28	14	6	3	2	1	0	26
<i>Shigella sp.</i>	2	5	6	6	1	0	20	2	4	9	3	0	0	18
<i>Salmonella sp.</i>	0	0	0	0	0	0	0	1	2	0	0	0	0	3
Otras bacterias	28	17	9	5	2	0	61	20	17	8	4	1	0	50
Total	61	26	17	14	4	1	123	42	33	20	9	3	0	107

El agente etiológico encontrado en mayor porcentaje es *E. coli sp* afectando al grupo etéreo niños menores de 1 año con 22 casos en comparación con el grupo etéreo niñas menores de 1 año con 14 casos, en segundo lugar afecta a los niñas de 1 años con 6 casos mientras que en el sexo masculino afecta en segundo lugar a las niños de 3 años, en tercer lugar afecta a los niñas de 3 años con 2 casos mientras que en el sexo masculino afecta en tercer lugar a las niños de 1,4 y 5 años y niñas de 4 años con 1 caso en todos los grupos.

El segundo agente etiológico a *Shigella sp.* afectando en primer lugar a las niñas de 2 años con 9 casos, seguido de los niños de 2 y 3 años con 6 casos, en segundo lugar afecta a los niños de 1 año con 5 casos, seguido de las niñas de 1 año con 4 casos, en tercer lugar afecta a las niñas de 3 años con 3 casos, seguido de los niños menores de 1 año con 2 casos y los niños de 4 años con 1 caso.

El tercer agente etiológico es *Campylobacter sp.* afectando en primer lugar a las niños menores de 1 años con 9 casos, seguido de los niñas menores de 1 con 5 casos, en segundo lugar afecta a los niñas de 1 año con 4 casos, seguido de las niños de 1 con 3 casos , en tercer lugar afecta a las niños de 2 años con 2 casos, seguido de los niñas de 4 años con 1 caso.

Tabla N° 17
Hospital San Bartolomé
Distribución de Pacientes según Diagnostico por sexo y edad

Sexo	Masculino							Femenino						
Edades	Edades						Total	Edades						Total
Diagnostico	< 1 Año	1 Año	2 Años	3 Años	4 Años	5 Años		< 1 Año	1 Año	2 Años	3 Años	4 Años	5 Años	
<i>Campylobacter sp.</i>	3	3	0	0	0	0	6	3	3	1	0	0	0	7
<i>E coli sp.</i>	14	9	3	3	1	0	30	11	10	0	0	1	1	23
<i>Shigella sp.</i>	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	2
<i>Salmonella sp.</i>	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
Otras bacterias	25	18	7	4	2	2	58	15	19	5	3	4	2	48
Total	43	30	10	7	3	2	95	30	32	6	4	5	3	80

El agente etiológico encontrado en mayor porcentaje es *E. coli sp.* afectando al grupo etéreo niños menores de 1 año con 14 casos en comparación con el grupo etéreo niñas menores de 1 año con 11 casos, en segundo lugar afecta a los niñas de 1 años con 10 casos mientras que en el sexo masculino afecta en segundo lugar a las niños de 1 año con 9 casos, en tercer lugar afecta a los niños de 2 y 3 años con 3 casos en ambos grupos, en cuarto lugar afecta a los niños de 4 y 5 años y niñas de 4 y 5 años con 1 caso para cada grupo.

El segundo agente etiológico es *Campylobacter sp.* afectando en primer lugar a las niños menores de 1 año, 1 año, niñas menores de 1 año y 1 año con 3 casos para cada grupo, en segundo lugar afecta a las niñas de 2 años con 1 caso.

El tercer agente etiológico a *Shigella sp.* Encontrando en las niñas menores de 1 año y 3 años solo 1 caso.

Tabla N° 18

Distribución de Pacientes por Hospital según Diagnostico por sexo y edad

Hospital	Hospital de Emergencias Pediátricas							Hospital San Bartolomé						
Edades	Edades							Edades						
Diagnostico	< 1 Año	1 Año	2 Años	3 Años	4 Años	5 Años	Total	< 1 Año	1 Año	2 Años	3 Años	4 Años	5 Años	Total
<i>Campylobacter sp.</i>	14	7	2	0	1	0	24	6	6	1	0	0	0	13
<i>E coli sp.</i>	36	7	3	5	2	1	54	25	19	3	3	2	1	53
<i>Shigella sp.</i>	4	9	15	9	1	0	38	1	0	0	1	0	0	2
<i>Salmonella sp.</i>	1	2	0	0	0	0	3	1	0	0	0	0	0	1
Otras bacterias	48	34	17	9	3	0	111	40	37	12	7	6	4	106
Total	103	59	37	23	7	1	230	73	62	16	11	8	5	175

El agente etiológico encontrado en mayor porcentaje en ambos hospitales es *E. coli sp.* afectando al grupo etéreo niños menores de 1 año con 36 casos en HEP en comparación con HSB 25 casos, en segundo lugar esta el grupo de 1 año con 7 casos en HEP y 19 casos en HSB, en tercer lugar el grupo 3 años con 5 casos en HEP, seguido de 2 y 3 años en el HSB, en cuarto lugar grupo 4 años con 2 casos en HEP y HSB.

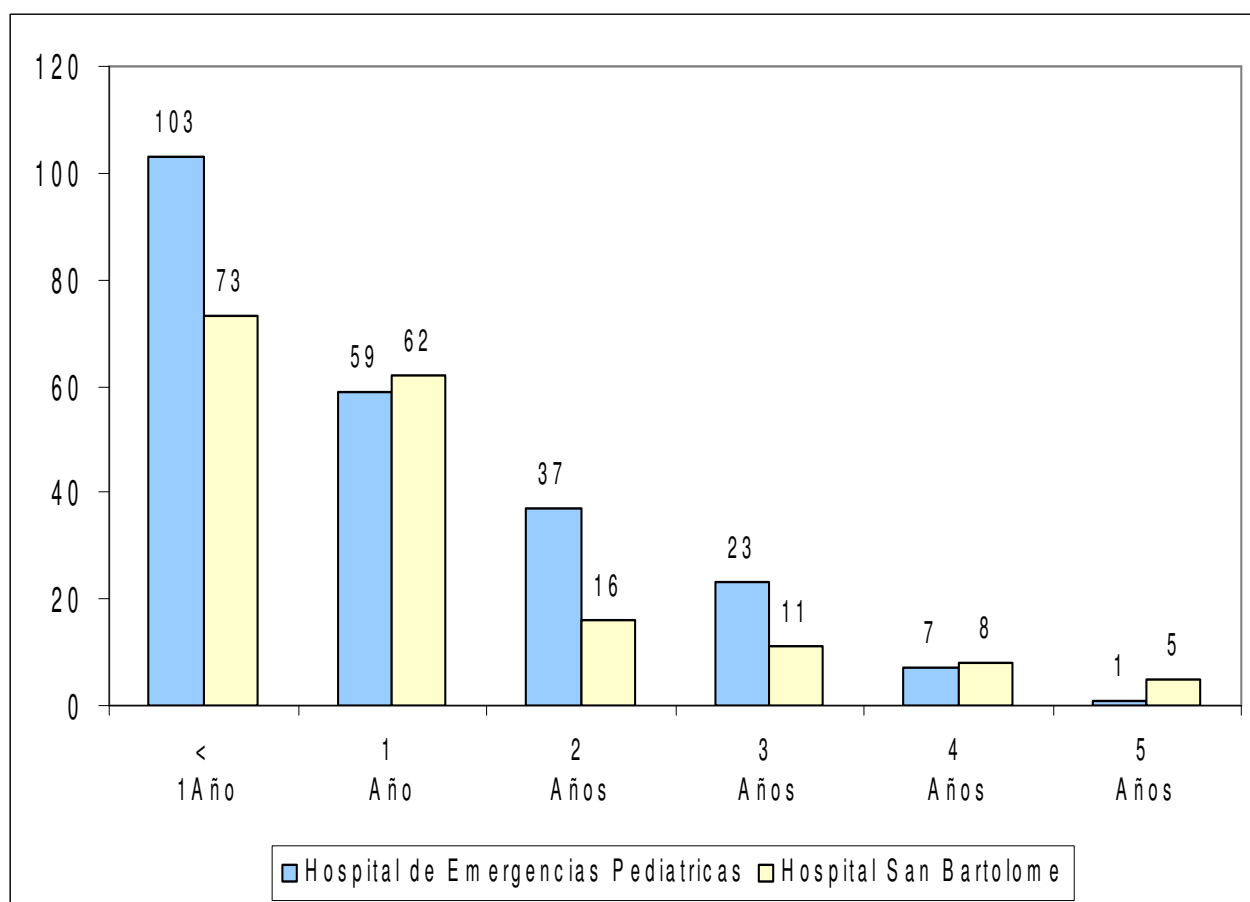
El segundo agente etiológico a *Shigella sp.* afectando en primer lugar a las niñas de 2 años con 15 casos en el HEP, en segundo lugar el grupo de 1 y 3 años con 9 casos en el HEP, en tercer lugar afecta al grupo menores de 1 año con 4 casos, seguido del grupo de 4 años con 1 casos en HEP y el grupo de menores de 1 año en HSB.

El tercer agente etiológico es *Campylobacter sp.* afectando en primer lugar a las niños menores de 1 años con 14 casos en HEP, seguido del grupo 1 año con 7 casos en HEP, en segundo lugar afecta al grupo menores de 1 y 1 año con 6 casos respectivamente en HSB, en tercer lugar afecta al grupo de 2 años con 2 casos en HEP, seguido del grupo de 4 años con 1 caso en HEP y 2 años con 1 caso en HSB.

Siendo la proporción en edades mayor para los menores de 1 año en HEP con 103 casos en comparación con HSB con 73 casos.

(*)HEP: Hospital de Emergencias Pediátricas; HSB: Hospital Materno-Infantil San Bartolomé.

Grafico N° 18
Distribución de Pacientes por Hospital según Diagnostico por sexo y edad



ANEXO 5

FICHA EPIDEMIOLOGICA

Establecimiento de Salud:	
Fecha:	
Código del Paciente:	
Edad:	
Sexo:	

Establecimiento de Salud:	
Fecha:	
Código del Paciente:	
Edad:	
Sexo:	

Establecimiento de Salud:	
Fecha:	
Código del Paciente:	
Edad:	
Sexo:	

Establecimiento de Salud:	
Fecha:	
Código del Paciente:	
Edad:	
Sexo:	

Establecimiento de Salud:	
Fecha:	
Código del Paciente:	
Edad:	
Sexo:	

Establecimiento de Salud:	
Fecha:	
Código del Paciente:	
Edad:	
Sexo:	

ANEXO 6

TIPIFICACIÓN DE *Campylobacter*

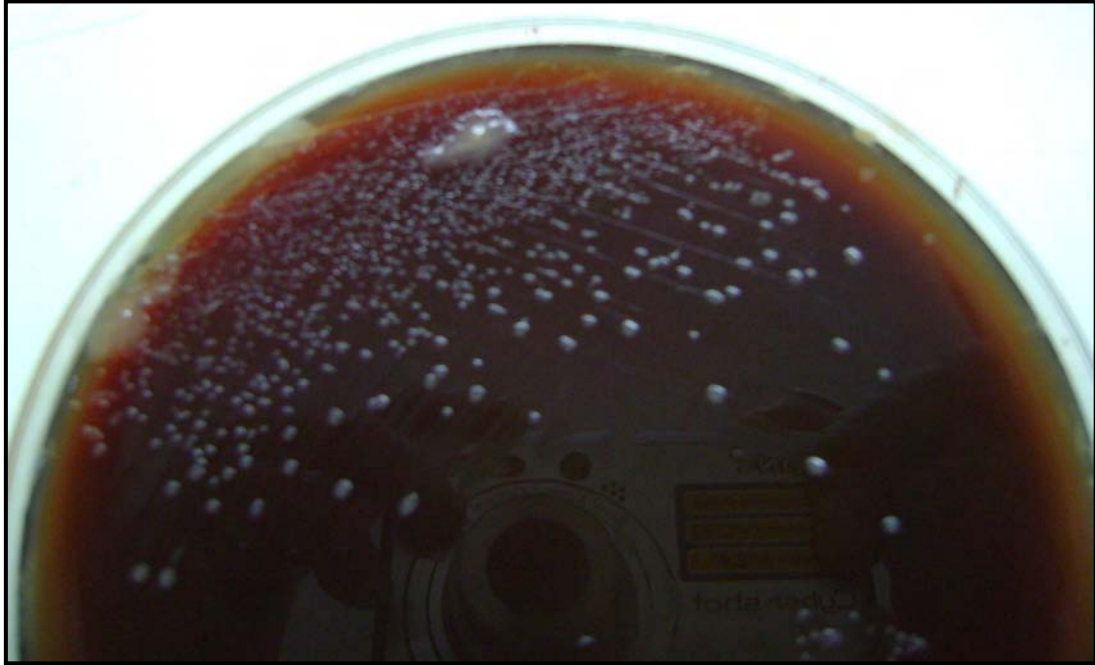
Pruebas	Catalasa	Hidrólisis del Hipurato	Sensibilidad		Especie
			Ac Nalidixico	Cefalotina	
Hospital emergencias Pediátricas					
1	+	+	S	R	Campylobacter jejuni sp.
2	+	+	S	R	Campylobacter jejuni sp.
3	+	-	S	R	Campylobacter coli.
4	+	+	S	R	Campylobacter jejuni sp.
5	+	+	S	R	Campylobacter jejuni sp.
6	+	+	S	R	Campylobacter jejuni sp.
7	+	+	S	R	Campylobacter jejuni sp.
8	+	-	S	R	Campylobacter coli.
9	+	+	S	R	Campylobacter jejuni sp.
10	+	+	S	R	Campylobacter jejuni sp.
11	+	+	S	R	Campylobacter jejuni sp.
12	+	+	S	R	Campylobacter jejuni sp.
13	+	+	S	R	Campylobacter jejuni sp.
14	+	-	S	R	Campylobacter coli.
15	+	+	S	R	Campylobacter jejuni sp.
16	+	+	S	R	Campylobacter jejuni sp.
17	+	+	S	R	Campylobacter jejuni sp.
18	+	+	S	R	Campylobacter jejuni sp.
19	+	+	S	R	Campylobacter jejuni sp.
20	+	+	S	R	Campylobacter jejuni sp.
21	+	+	S	R	Campylobacter jejuni sp.
22	+	+	S	R	Campylobacter jejuni sp.
23	+	+	S	R	Campylobacter jejuni sp.
24	+	+	S	R	Campylobacter jejuni sp.
Hospital Materno-Infantil San Bartolomé					
1	+	-	R	R	Campylobacter lari
2	+	-	S	R	Campylobacter coli.
3	+	-	R	R	Campylobacter lari
4	+	+	S	R	Campylobacter jejuni sp.
5	+	+	S	R	Campylobacter jejuni sp.
6	+	-	S	R	Campylobacter coli.
7	+	-	S	R	Campylobacter coli.
8	+	-	S	R	Campylobacter coli.
9	+	-	S	R	Campylobacter coli.
10	+	-	S	R	Campylobacter coli.
11	+	-	R	R	Campylobacter lari
12	+	+	S	R	Campylobacter jejuni sp.
13	+	+	S	R	Campylobacter jejuni sp.

Figura N° 1
Medio selectivo para *Campylobacter sp.*



Después de 24 horas de incubación a 42° C las colonias se aprecian como gotas de rocío transparentes, sin presencia de hemólisis, nótese la técnica de sembrado “en estrias” para un mejor aislamiento y apreciación de la morfología de las colonias.

Figura N° 2
CRECIMIENTO DE *Campylobacter* sp.



Después de 48 horas de incubación a 42° C las colonias se aprecian de mayor tamaño, planas, grisáceas, brillantes y mantienen la ausencia de hemólisis, las colonias mas espaciadas se aprecian como gotitas salpicadas sobre el agar.

Figura N° 3
CRECIMIENTO DE *Escherichia coli* sp.
Agar Mac Conkey



Después de 24 horas de incubación a 37° C se evidencian colonias rojizas con un precipitado de ácidos biliares. El medio vira también a color rojizo.

Figura N° 4
CRECIMIENTO DE *Salmonella* sp.
Agar Mac Conkey



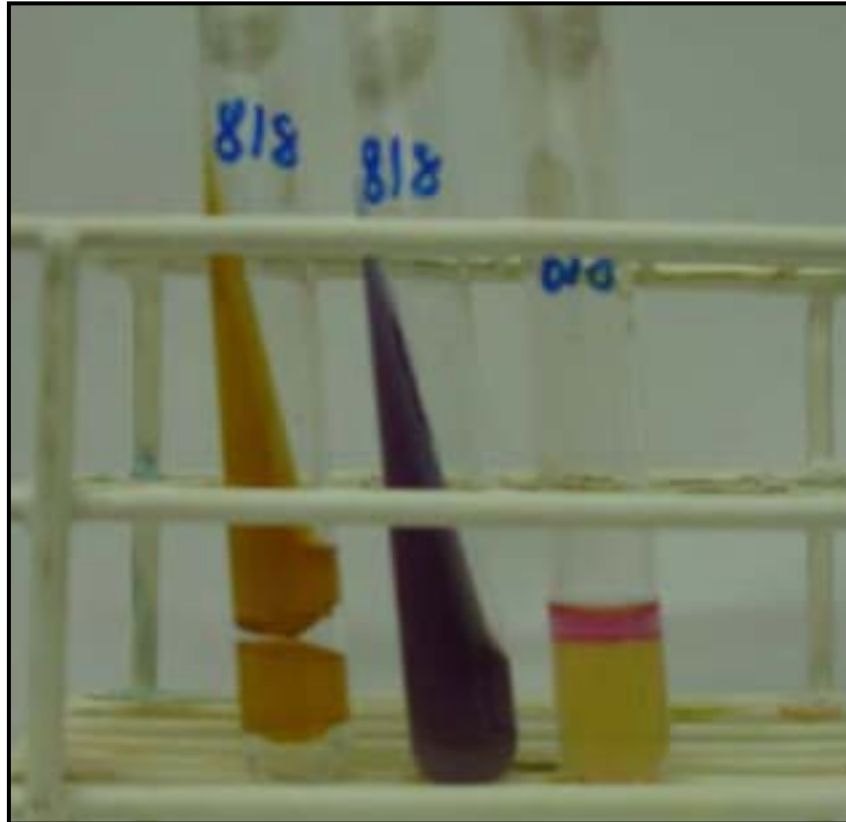
Después de 24 horas de incubación a 37° C se evidencian colonias amarillas, no presentan precipitado.

Figura N° 5
CRECIMIENTO DE *Shigella sp.*
Agar Mac Conkey



Después de 24 horas de incubación a 37° C se evidencian amarillas mucoides, no presenta precipitado.

Figura N° 6
BIOQUÍMICA DE *Escherichia coli* sp.



De izquierda a derecha:

TSI: Reacción ácida en el fondo, ácida en pico de flauta, viraje del medio a amarillo. Con presencia de CO_2 evidenciado por el rompimiento del agar en el tubo. Sin producción de H_2S .

LIA: Reacción alcalina en el fondo, alcalina en pico de flauta, el medio mantiene su color lila original. Sin presencia de CO_2 . Sin producción de H_2S .

Producción de Indol: positiva, formación de anillo de color cereza.

Figura N° 7
BIOQUÍMICA DE *Salmonella sp.*



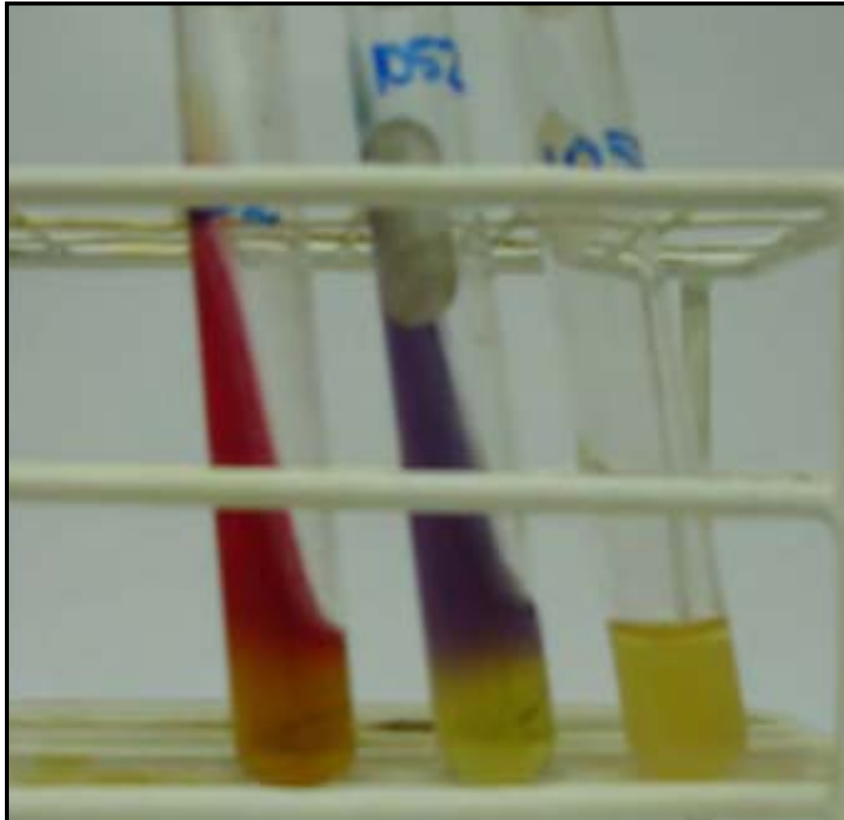
De izquierda a derecha:

TSI: Reacción ácida en el fondo, alcalina en pico de flauta, viraje del medio en el fondo a amarillo y en pico de flauta a rojo. Sin producción de CO₂. Con producción de H₂S en el fondo del tubo.

LIA: Reacción alcalina en el fondo, alcalina en pico de flauta, el medio mantiene su color lila original. Sin presencia de CO₂. Con producción de H₂S.

Producción de Indol: Negativo.

Figura N° 8
BIOQUÍMICA DE *Shigella sp.*



De izquierda a derecha:

TSI: Reacción ácida en el fondo, alcalina en pico de flauta, viraje del medio en el fondo a amarillo y en pico de flauta a rojo. Son producción de CO₂. Sin producción de H₂S.

LIA: Reacción ácida en el fondo, alcalina en pico de flauta, el medio en pico de flauta mantiene su color lila original y en el fondo vira a amarillo. Sin presencia de CO₂. Sin producción de H₂S.

Producción de Indol: Negativo.